

Institut für Neurowissenschaften und Medizin  
Nuklearchemie (INM-5)

# Synthese $^{18}\text{F}$ -markierter NO-Synthase-Inhibitoren

*Christian Drerup*





# **Synthese $^{18}\text{F}$ -markierter NO-Synthase-Inhibitoren**

*Christian Drerup*

Berichte des Forschungszentrums Jülich; 4390  
ISSN 0944-2952  
Institut für Neurowissenschaften und Medizin  
Nuklearchemie (INM-5)  
Jül-4390

D 38 (Diss., Köln, Univ., 2015)

Vollständig frei verfügbar über das Publikationsportal des Forschungszentrums Jülich (JuSER)  
unter [www.fz-juelich.de/zb/openaccess](http://www.fz-juelich.de/zb/openaccess)

Forschungszentrum Jülich GmbH  
Zentralbibliothek, Verlag  
52425 Jülich  
Tel.: +49 2461 61-5220  
Fax: +49 2461 61-6103  
E-Mail: [zb-publikation@fz-juelich.de](mailto:zb-publikation@fz-juelich.de)  
[www.fz-juelich.de/zb](http://www.fz-juelich.de/zb)

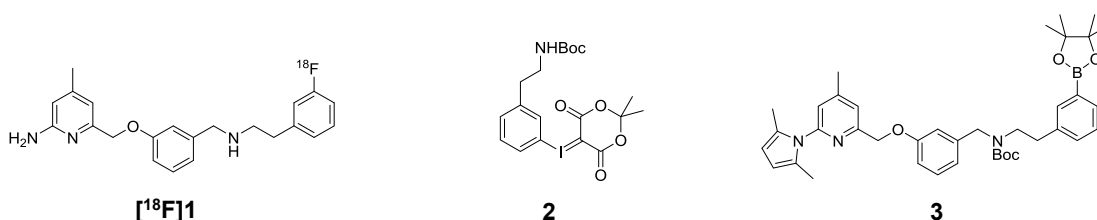
Berichterstatte: Prof. Dr. Heinz Hubert Coenen  
Prof. Dr. Hans-Günther Schmalz

Tag der mündlichen Prüfung: 08. April 2015

Diese Arbeit entstand in der Zeit von Januar 2012 bis Januar 2015 am Institut für Neurowissenschaften und Medizin, INM-5: Nuklearchemie, des Forschungszentrum Jülich unter der Anleitung von Prof. Dr. H. H. Coenen (Lehrstuhl für Nuklearchemie der Universität zu Köln).

## Kurzzusammenfassung

Stickstoffmonoxid (NO), ein wichtiger Botenstoff, wird enzymatisch aus L-Arginin von drei Isoformen der NO-Synthase (NOS) gebildet. Seine Überproduktion steht in Zusammenhang mit neurodegenerativen Erkrankungen, weshalb die Entwicklung selektiver Inhibitoren für die induzierbare oder die neuronale NOS von großem Interesse für die Identifizierung neurodestruktiver Schlüsselfaktoren ist. Über die molekulare *in vivo* Bildgebung der Positronen-Emissions-Tomographie soll die Funktion der NO-Synthase daher mittels geeigneter  $^{18}\text{F}$ -markierter Inhibitoren untersucht werden. In Ergänzung zum bereits bestehenden iNOS-Inhibitor 6-(2-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorpropyl)-4-methylpyridin-2-amin bietet sich als mögliche Zielverbindung der potentielle nNOS-Inhibitor 6-((3-((3-Fluorphenylethylamino)-methyl)phenoxy)methyl)-4-methylpyridin-2-amin (**1**) zur trägerarmen Radiofluorierung an.



Zurzeit beschränkt sich die Radiosynthese trägerarm  $^{18}\text{F}$ -markierter Produkte weitgehend auf die nukleophile Umsetzung. Basierend auf cyclovoltammetrischen Messungen wurde daher die trägerarme Elektrosynthese des elektrophilen  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzes  $N$ -[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorbis-(trifluormethylsulfonyl)imid ( $\text{ Tf}_2\text{N}-[^{18}\text{F}]\text{F}$ ) angestrebt. Die anschließende Umsetzung des Elektrosyntheseproduktes mit einer aromatischen Testverbindung führte zu geringen Mengen eines korrespondierenden  $^{18}\text{F}$ -markierten Derivates. In diesem frühen Entwicklungsstadium scheint die Darstellung eines elektrophilen n.c.a.  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzes prinzipiell machbar. Für die effektive Synthese von  $^{18}\text{F}$ -markierten NOS-Inhibitoren wurden jedoch etablierte Markierungsmethoden gewählt.

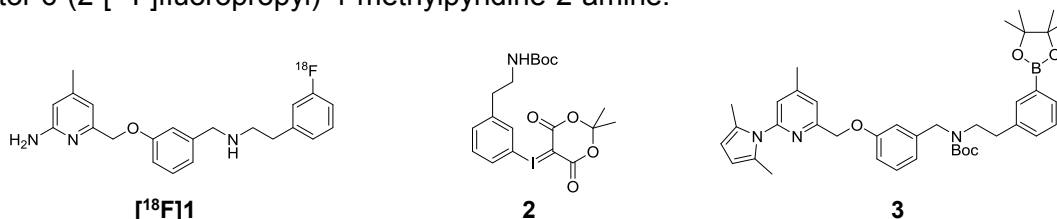
Im Hinblick auf die Darstellung von [ $^{18}\text{F}$ ]**1** wurde zunächst eine Aufbausynthese basierend auf dem Iodoniumylid-Vorläufer **2** angestrebt. Der aktivierte Aromat wurde regioselektiv mit n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid mit einer radiochemischen Ausbeute (RCA) von 79 % markiert. Nach einer reduktiven Aminierung und anschließender mikrowellengestützten Entschützung wurde der nNOS-Inhibitor mit einer RCA von 15 % erhalten. Alternativ führte ein vereinfachtes Synthesekonzept über den Boronsäureester **3** als Vorläufer über eine neuartige Cu(II)-vermittelte n.c.a. Fluorierungsmethode zur gleichen Ausbeute.

Nach Optimierung der Radiosynthese des bereits bestehenden iNOS-Inhibitors 6-(2-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorpropyl)-4-methylpyridin-2-amin stehen nun zwei potentielle und isoformselektive  $^{18}\text{F}$ -markierte NOS-Liganden zur Evaluierung als Radiotracer in weiterführenden präklinischen Studien zur Verfügung.



## Abstract

Nitric oxide (NO), an important signalling molecule, is synthesized from L-arginine by three isoforms of NO-synthase (NOS). Its overproduction has been associated with neurodegenerative disorders. Therefore, developing selective inhibitors of iNOS or nNOS is of great interest for decoding neurodestructive key factors. Suitable  $^{18}\text{F}$ -labelled analogues would allow for investigation of the NOS-function by molecular *in vivo* imaging with positron-emission-tomography. Potentially, the highly selective nNOS inhibitor 6-((3-((3-fluorophenylethylamino)methyl)phenoxy)methyl)-4-methyl-pyridine-2-amine (**1**) is a suitable compound for labelling with no-carrier-added (n.c.a.)  $^{18}\text{F}$ fluoride, complementing the established iNOS inhibitor 6-(2- $^{18}\text{F}$ fluoropropyl)-4-methylpyridine-2-amine.



Presently the radioorganic syntheses of n.c.a.  $^{18}\text{F}$ -labelled products are practically limited to nucleophilic procedures. Based on cyclic voltammetric measurements an electrochemical synthesis of n.c.a. *N*- $^{18}\text{F}$ fluorobis(trifluoromethylsulfonyl)imide ( $\text{Tf}_2\text{N}-^{18}\text{F}$ ) was attempted. The following conversion of the electrosynthetic product with an activated arene led to an  $^{18}\text{F}$ -labelled derivative. In this early developmental stage, a production of an n.c.a. electrophilic  $^{18}\text{F}$ -fluorinating reagent from  $^{18}\text{F}$ fluoride appears probable. For the effective labelling of NOS-inhibitors, however more sophisticated labelling methods had to be chosen.

With regard to the nNOS-Inhibitor **1** a built-up radiosynthesis based on a iodonium ylide **2** as precursor was attempted. The activated aromatic system was efficiently and region-selectively labelled with n.c.a.  $^{18}\text{F}$ fluoride in 79 % radiochemical yield (RCY). After conversion by reductive amination and microwave assisted displacement of the protecting groups the desired nNOS inhibitor was obtained in 15 % RCY. Alternatively, for a simplified late-stage  $^{18}\text{F}$ -labelling procedure the corresponding boronic ester precursor **3** was synthesized and labelled starting by novel copper(II) mediated n.c.a.  $^{18}\text{F}$ -fluorination and led to the same RCY.

After optimizing the radiolabelling procedure of the established iNOS inhibitor 6-(2- $^{18}\text{F}$ fluoropropyl)-4-methylpyridine-2-amine, now there are two highly selective NOS-inhibitors available for preclinical *in vivo* evaluation studies.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1	Herstellung von Fluor-18 .....	4
1.2	Markierungsreaktionen mit Fluor-18 .....	5
1.2.1	Nukleophile Markierungen mit [ <sup>18</sup> F]Fluorid.....	6
1.2.2	Aufbausynthesen .....	10
1.2.3	Übergangsmetallvermittelte <sup>18</sup> F-Fluorierungen .....	12
1.2.4	Radiofluorierungen über hypervalente Verbindungen des Iods .....	15
1.2.5	Elektrochemische Markierungen mit Fluor-18 .....	18
1.2.6	Elektrophile Markierungen mit Fluor-18 .....	24
1.2.7	Elektrophile <sup>18</sup> F-Fluorierungsreagenzien .....	26
1.3	Bedeutung des Stickstoffmonoxids als endogener Botenstoff .....	32
1.3.1	Funktion und Struktur der NO-Synthase .....	33
1.3.2	Wirkmechanismus von NO .....	35
1.3.3	NO als Vasodilator im kardiovaskulären System .....	35
1.3.4	NO als Neurotransmitter im zentralen und peripheren Nervensystem ...	36
1.3.5	NO als Zytostatikum im Immunsystem .....	37
1.4	NOS-Inhibitoren .....	38
1.4.1	nNOS-selektive Inhibitoren .....	41
1.4.2	Radiomarkierte NOS-Inhibitoren.....	44
<b>2</b>	<b>Problemstellung.....</b>	<b>46</b>
<b>3</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion .....</b>	<b>48</b>
3.1	Elektrosynthese elektrophiler <sup>18</sup> F-Fluorierungsreagenzien .....	48
3.1.1	Elektrochemische Darstellung von <i>N</i> -Fluoraminen .....	48
3.1.2	Voruntersuchungen zur Darstellung von <i>N</i> -[ <sup>18</sup> F]Fluoraminen .....	49
3.1.3	CV-Untersuchungen von BMPTf <sub>2</sub> N an Platin.....	54
3.1.4	Radioaktive Elektrosyntheseversuche mit direktem Analysekonzept ....	56
3.1.5	Radioaktive Elektrosyntheseversuche mit indirektem Analysekonzept..	62
3.1.6	Zusammenfassung der Ergebnisse zur Untersuchung der Elektrosynthese von elektrophilen <sup>18</sup> F-Fluorierungsreagenzien.....	70
3.2	Synthese <sup>18</sup> F-markierter NOS-Inhibitoren auf der Basis von 5-[ <sup>18</sup> F]Fluorlysin .....	71
3.2.1	Darstellung der Referenzverbindungen .....	72

3.2.2	Darstellung des Markierungsvorläufers .....	75
3.2.3	Radiosynthesen .....	76
3.2.4	Zusammenfassung der Untersuchungen zur Darstellung des iNOS Inhibitors (5S)-5-[ <sup>18</sup> F]Fluor-N6-iminoethyl-L-Lysin .....	82
3.3	Radiosynthese des iNOS-Inhibitors 6-(2-[ <sup>18</sup> F]Fluorpropyl)-4-methylpyridin- 2-amin .....	83
3.3.1	Darstellung des Markierungsvorläufers .....	84
3.3.2	Darstellung der Referenzverbindungen .....	86
3.3.3	Radiosynthesen .....	87
3.3.4	Zusammenfassung der Optimierungen zur Darstellung des iNOS- Inhibitors [ <sup>18</sup> F]18 .....	94
3.4	Darstellung des nNOS Inhibitors 6-((3-((3-[ <sup>18</sup> F]Fluorphenylethylamino)- methyl)phenoxy)methyl)-4-methylpyridin-2-amin .....	96
3.4.1	Voruntersuchungen zur Darstellung und Eignung des Synthons [ <sup>18</sup> F]27 für die Aufbausynthese zum <sup>18</sup> F-markierten nNOS-Inhibitor .....	97
3.4.2	Darstellung der HPLC-Referenzverbindung .....	106
3.4.3	Radiosynthesekonzept zur Aufbausynthese des <sup>18</sup> F-markierten nNOS-Inhibitors [ <sup>18</sup> F]32 .....	107
3.4.4	Realisierung der Aufbausynthese des nNOS-Inhibitors 6-((3-((3- [ <sup>18</sup> F]Fluorphenylethylamino)methyl)phenoxy)methyl)-4-methyl pyridin-2-amin [ <sup>18</sup> F]32 .....	109
3.4.5	Zusammenfassung der Ergebnisse der Untersuchungen zur Radiosynthese des nNOS-Inhibitors [ <sup>18</sup> F]32 .....	114
3.5	Untersuchungen zur Darstellung des nNOS Inhibitors [ <sup>18</sup> F]32 über eine Kupfer-vermittelte Direktmarkierung .....	115
3.5.1	Voruntersuchungen zur Kupfer-vermittelten <sup>18</sup> F-Markierung von Arylboronsäureestern .....	115
3.5.2	Darstellung des Radiosynthesevorläufers für die Kupfer-vermittelte <sup>18</sup> F-Markierung des nNOS-Inhibitors mittels Arylboronsäureester .....	119
3.5.3	Kupfer-vermittelte Radiofluorierung des nNOS-Inhibitors .....	121
3.5.4	Untersuchungen zur mikrowellengestützten Entschützung von Verbindung 41 .....	122
3.5.5	Zusammenfassung der Ergebnisse zur Kupfer-vermittelten Direkt- markierung des nNOS-Inhibitors [ <sup>18</sup> F]32 .....	124
<b>4</b>	<b>Experimenteller Teil .....</b>	<b>125</b>
4.1	Generelle Arbeitstechniken .....	125
4.1.1	Präparative Chromatographie und Dünnschichtchromatographie .....	125

4.1.2	Spektrometrische Methoden .....	126
4.1.3	Präparative Radiochromatographie .....	127
4.1.4	Radioanalytische Methoden .....	127
4.2	Cyclovoltammetrie .....	133
4.2.1	Deckschichtdiagramm .....	133
4.2.2	Methodenentwicklung .....	135
4.2.3	CV-Messungen .....	138
4.3	Elektrosynthesen .....	139
4.4	Synthesen organischer Verbindungen .....	143
4.4.1	Synthesen im Zusammenhang mit dem direkten und indirekten Nachweis des elektrophilen $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzes $\text{Tf}_2\text{N}-[^{18}\text{F}]\text{F}$ ....	143
4.4.2	Synthese des iNOS-Inhibitors 6 .....	145
4.4.3	Synthese des iNOS-Inhibitors 18 .....	151
4.4.4	Synthesen der Iodoniumylidvorläufer .....	161
4.4.5	Synthese des nNOS-Inhibitors 32 über eine Aufbausynthese .....	174
4.4.6	Synthese des Kupferkomplexes Tetrakis(pyridin)bis(trifluormethansulfonat-O)kupfer(II) .....	183
4.4.7	Synthese des Boronsäureestervorläufers 37 .....	184
4.4.8	Synthese des nNOS-Inhibitors 32 über eine Kupfer-vermittelte Direktmarkierung .....	186
4.4.9	Mikrowellengestützte Entfernung der Boc- und der Pyrrol-Schutz- gruppe am Beispiel der Referenzverbindung 41 .....	189
4.5	Radiosynthesen .....	191
4.5.1	Produktion von n.c.a. $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ .....	191
4.5.2	Azeotrope Trocknung .....	191
4.5.3	Radiosynthese von 5- $[^{18}\text{F}]\text{Fluorlysin}$ .....	192
4.5.4	Radiosyntheseveruche zur Darstellung des lysinbasierten iNOS- Inhibitors $[^{18}\text{F}]\text{6}$ .....	193
4.5.5	Radiosynthese des Aminopyridin-basierten iNOS-Inhibitors $[^{18}\text{F}]\text{18}$ ....	194
4.5.6	Radiosynthese von 2-, 3- und 4- $[^{18}\text{F}]\text{Fluoranol}$ ( $[^{18}\text{F}]\text{42}$ ) .....	196
4.5.7	Radiosynthese von <i>tert</i> .-Butyl- $([^{18}\text{F}]\text{fluorphenylethyl})\text{carbamat}$ ( $[^{18}\text{F}]\text{27}$ ) .....	197
4.5.8	Radiosynthese des nNOS-Inhibitors $[^{18}\text{F}]\text{32}$ über die Aufbausynthese	197
4.5.9	Kupfer-vermittelte Radiosynthese des Modellvorläufers 37 .....	199
4.5.10	Kupfer-vermittelte Radiosynthese des nNOS-Inhibitors über den Boronsäureestervorläufer 40 .....	199

<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>201</b>
<b>6</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>206</b>
6.1	CV-Apparatur .....	206
6.2	Cyclovoltammogramme .....	207
6.3	HPLC-Chromatogramme.....	211
<b>7</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>221</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>224</b>
<b>9</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>236</b>

# 1 Einleitung

In den vergangenen Jahren hat das Forschungsfeld der Radiochemie immer mehr an Bedeutung gewonnen und ist vor allem mit der modernen nuklearmedizinischen Diagnostik eng verknüpft. Anfang des 19. Jahrhunderts, schon bald nach der Entdeckung der Radioaktivität durch H. Becquerel und das Ehepaar Curie, entstand die Idee, radioaktive Nuklide für die Untersuchung am lebenden Organismus einzusetzen. Mit geringsten Mengen eines geeigneten radioaktiven Stoffes lassen sich Informationen über Stoffwechselfunktionen des menschlichen Körpers gewinnen, indem die Verteilung des radioaktiven Stoffes im biologischen System anhand der Strahlung verfolgt wird. Für diese Entwicklung wurde George de Hevesy 1943 mit dem Nobelpreis der Chemie ausgezeichnet.<sup>1</sup> Bei diesem sogenannten Radiotracerverfahren, das auf Grundlage der chemischen Ununterscheidbarkeit isotoper Nuklide die Untersuchung biochemischer Vorgänge prinzipiell ohne Störung chemischer bzw. biologischer Gleichgewichte ermöglicht, kann die örtliche Verteilung durch den radioaktiven Stoff verfolgt werden.

Die Untersuchungen von *de Hevesy* und *Paneth* waren zunächst auf die Verwendung angereicherter natürlicher Isotope beschränkt.<sup>2,3</sup> Künstliche Radionuklide standen jedoch im größeren Umfang erst nach der Erfindung des Zyklotrons 1930 durch Ernest O. Lawrence und der Entdeckung der neutroneninduzierten Kernspaltung 1938/39 durch *Otto Hahn* und *Friedrich W. Straßmann* zur Verfügung.<sup>4</sup> Auf diese Weise sowie durch die Anwendung vieler neutroneninduzierter Kernreaktionen wurden Radioisotope von allen bekannten Elementen zugänglich.

Das universale Konzept des Radiotracers besitzt durch die breite Verfügbarkeit von Radioisotopen heute in nahezu allen Bereichen der Lebenswissenschaften ein breites analytisches, diagnostisches und therapeutisches Anwendungsspektrum und hat einen wesentlichen Beitrag zur Erforschung biochemischer Stoffwechselprozesse geleistet.

In der Medizin werden abhängig von Einsatzgebiet und Problemstellung inzwischen zahlreiche künstliche Radionuklide sowohl zur Strahlentherapie als auch für diagnostische Untersuchungen eingesetzt.<sup>5</sup> Die verschiedenen chemischen und physikalischen Eigenschaften, wie die Zerfallsart, Zerfallsenergie und die Halbwertszeit, schränken die Anwendungsgebiete künstlicher Isotope für die Nuklearmedizin jedoch deutlich ein.<sup>6</sup> So werden für therapeutische Zwecke Nuklide mit korpuskularer

Strahlung wie Emitter von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Partikeln oder von Auger- und Konversions-elektronen verwendet, die einen hohen linearen Energietransfer (LET) aufweisen.<sup>7</sup> Kurzlebige Radionuklide, die mit einer geeigneten  $\beta^+$ - oder  $\gamma$ -Energie eine orts aufgelöste Aufnahme der radioaktiven Strahlung außerhalb des Körpers erlauben, sind hingegen Basis moderner bildgebender Verfahren für die *in vivo* Erfassung ablaufender physiologischer und biochemischer Prozesse. Zu diesen diagnostischen Verfahren zählen die Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie (SPECT) sowie die Positronen-Emissions-Tomografie (PET).<sup>5</sup>

Für die Untersuchung von Patienten und Probanden oder Tieren mittels SPECT werden Radionuklide verwendet, welche über einen Elektroneneinfang oder einen Isomerenübergang zerfallen und dabei  $\gamma$ -Strahlung mit einer Energie zwischen 70 bis 250 keV freisetzen.<sup>7</sup> Zu den bedeutendsten Nukliden für dieses Verfahrens zählt Technetium-99m ( $^{99m}\text{Tc}$ ;  $t_{1/2} = 6 \text{ h}$ ), das beim Übergang in den Grundzustand ein Photon mit einer Energie von 141 keV freisetzt und außerhalb des Körpers von SPECT-Geräten registriert wird.

Mit der modernen nuklearmedizinischen PET-Diagnostik können regionale Stoffwechselfunktionen quantitativ erfasst werden. Die dafür geeigneten Stoffwechselsubstrate wie Aminosäuren, Saccharide oder Fettsäuren bestehen hauptsächlich aus den Elementen Wasserstoff, Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff und Schwefel. Um das physiologische Verhalten dieser Substrate durch die radioaktive Markierung nicht zu beeinflussen, ist es erstrebenswert, die Positronen-emittierenden Isotope dieser Elemente für authentische Markierungen zu nutzen und somit die chemischen Eigenschaften unverändert zu lassen.

Für PET-Studien werden überwiegend die kurzlebigen Positronenemitter Kohlenstoff-11, Stickstoff-13, Sauerstoff-15 und Fluor-18 eingesetzt. Sie können mit Zyklotronen niedriger Teilchenenergien hergestellt werden (vgl. Tabelle 1).<sup>5</sup> Aufgrund der kurzen Halbwertszeiten bleiben die Anwendungen von Sauerstoff-15 oder Stickstoff-13 lediglich auf schnell synthetisierbare Tracermoleküle wie  $^{15}\text{O}] \text{O}_2$ ,  $^{15}\text{O}] \text{CO}$  oder  $^{13}\text{N}] \text{NH}_3$  sowie einfache enzymatisch erzeugte Stickstoff-13 Verbindungen beschränkt. Im Falle des Kohlenstoff-11 sind schnelle Mehrstufensynthesen basierend auf primären Bestrahlungsprodukten wie  $^{11}\text{C}] \text{CO}_2$  und  $^{11}\text{C}] \text{CH}_4$  möglich, die über Synthesebausteine wie insbesondere  $^{11}\text{C}] \text{CH}_3\text{I}$  für  $^{11}\text{C}$ -Methylierungen eingesetzt werden. Nach Reduktion von  $^{11}\text{C}] \text{CO}_2$  zu  $^{11}\text{C}] \text{CO}$  steht ein Synthons für

die Darstellung biologisch interessanter Carbonylverbindungen mittels moderner Insertionsverfahren zur Verfügung.<sup>8</sup>

*Tabelle 1: Die Zerfallsdaten der wichtigsten PET-Nuklide (nach 5 und 9).*

Isotop	Halbwertszeit	Zerfallsart [%]	$E_{\beta^+ \text{ max}}$ [keV]
<sup>11</sup> C	20,4 min	$\beta^+$ (99,8); EC (0,2)	960
<sup>13</sup> N	9,96 min	$\beta^+$ (100)	1190
<sup>15</sup> O	2,03 min	$\beta^+$ (99,9); EC (0,1)	1720
<sup>18</sup> F	109,7 min	$\beta^+$ (97); EC (3)	635
<sup>73</sup> Se	7,1 h	$\beta^+$ (65); EC (35)	1320
<sup>68</sup> Ga	68,3 min	$\beta^+$ (90); EC (10)	1900

Eine mögliche Alternative zur Analogmarkierung von schwefelhaltigen Verbindungen wie Cystein und Methionin bietet das homologe Isotop Selen-73.<sup>10</sup> Es ist durch seine deutlich längere Halbwertszeit genauso für kompliziertere Aufbausynthesen und ausgedehnte Untersuchungsprotokolle geeignet wie das Halogenisotop Fluor-18. Mittels letzterem wird unter Berücksichtigung des Struktur-Analogie-Prinzips durch eine Fremdmarkierung oft ein Wasserstoffatom gegen das sterisch sehr ähnliche Halogen ersetzt.<sup>6,11</sup> Dieses Isotop zeichnet sich durch seine moderate Halbwertszeit von 109,7 min und günstigen Zerfallseigenschaften aus. So wird durch eine vergleichsweise niedrige  $\beta^+$ -Energie von 635 keV einhergehend mit einer kurzen maximalen Positronenreichweite im Gewebe (Lungengewebe: 1,52 mm)<sup>12</sup> eine hohe Auflösung bei gleichzeitig niedriger Strahlendosis für den Patienten erreicht.<sup>13</sup>

Meilensteine wie die Entdeckung des Tracerprinzips, die Entwicklung des markierten Zuckerderivates 2-[<sup>18</sup>F]Fluorodeoxy-D-glucose [<sup>18</sup>F]FDG<sup>14</sup> zum Studium des Energiemetabolismus zusammen mit einer gut zugänglichen und effizienten Synthesestrategie<sup>15</sup> führten dazu, dass die molekulare Bildgebung heute zu einem unverzichtbaren Werkzeug in der klinischen Nuklearmedizin geworden ist.



## 1.1 Herstellung von Fluor-18

Ein wichtiges Maß für die Isotopenreinheit und somit auch für die Qualität des daraus hergestellten Radiopharmakons ist die spezifische bzw. molare Aktivität. Sie ist definiert als Aktivität bezogen auf die Masse aller isotoper (inaktiver und aktiver) Atome bzw. Moleküle in Gewichts- bzw. molarer Einheit und kann abhängig vom Herstellungsprozess des Radionuklids stark variieren.

Zu unterscheiden sind in diesem Zusammenhang auch die Begriffe „*trägerfrei*“ (engl.: carrier-free, c.f.), „*ohne Trägerzusatz*“ (engl.: no-carrier-added, n.c.a.) und „*mit Trägerzusatz*“ (engl.: carrier-added, c.a.). *Trägerfreie* Nuklide sind demzufolge ideal nur bei Radioelementen zu finden, von denen keine stabilen Isotope existieren. Durch die Allgegenwärtigkeit der natürlichen Elemente, zum Beispiel in Reaktionsgefäßen, Targetmaterialien, Gasen oder in den für die Synthese eingesetzten Chemikalien, kann eine Verdünnung des Radionuklides mit natürlichem isotopem Träger wie Kohlenstoff oder Fluor praktisch nicht verhindert werden. In diesem Falle wird bei Markierungssynthesen von „*ohne Trägerzusatz*“ n.c.a. gesprochen. Wird jedoch gezielt ein isotoper Träger zugesetzt, so spricht man von „*geträgerten*“ c.a. Produkten.<sup>6</sup>

Das heute extensiv genutzte Isotop Fluor-18 kann grundsätzlich über verschiedene Kernreaktionen hergestellt werden. Abhängig von der Kernreaktion und dem verwendeten Targetmaterial kann das als primärer Vorläufer für Radiosynthesen eingesetzte Fluor-18 in zwei verschiedenen chemischen Formen mit unterschiedlichen molaren Aktivitäten hergestellt werden (vgl. Tabelle 2).

Das Protonenbombardement eines mit Sauerstoff-18 angereichertem Wassertargets über die Kernreaktion  $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$  führt zu den höchsten Targetausbeuten und liefert anschließend in wässriger Lösung solvatisiertes n.c.a.  $^{18}\text{F}$ Fluorid. Alternativ gelangt man ausgehend von natürlichem Wasser über eine  $(^3\text{He},\text{p})$ -Kernreaktion ebenfalls zu  $^{18}\text{F}$ Fluorid. Unter Verwendung von Gastargets lässt sich das Nuklid über die Kernreaktion  $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$  oder  $^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$  als  $^{18}\text{F}\text{F}_2$  darstellen.<sup>16</sup> Das von den Targetwänden adsorbierte Fluor-18 lässt sich jedoch nur durch Zusatz von inaktivem  $\text{F}_2$  aus dem Target gewinnen, was die maximal erreichbare molare Aktivität deutlich herabsetzt.<sup>17,11</sup>

Tabelle 2: Die wichtigsten Kernreaktionen zur Produktion von Fluor-18 (nach 11).  
i Ti-Target; ii passiviertes Ni-Target; iii zweistufige Bestrahlungsmethode

Kernreaktion	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$	$^{16}\text{O}({}^3\text{He},\text{p})^{18}\text{F}$	$^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$
Targetmaterial	$\text{H}_2^{18}\text{O}$ <sup>i</sup>	$\text{H}_2\text{O}$	Ne (200 $\mu\text{mol F}_2$ ) <sup>ii</sup>	$^{18}\text{O}_2$ , Kr (50 $\mu\text{mol F}_2$ ) <sup>iii</sup>
chem. Form des $^{18}\text{F}$	$^{18}\text{F}^-_{\text{aq}}$	$^{18}\text{F}^-_{\text{aq}}$	$[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}_2$	$[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}_2$
Teilchenenergie [MeV]	$16 \rightarrow 3$	$36 \rightarrow 0$	$14 \rightarrow 0$	$16 \rightarrow 3$
Targetausbeute [GBq/ $\mu\text{Ah}$ ]	2,22	0,26	0,40	1,0
molare Aktivität [MBq/ $\mu\text{mol}$ ]	$\approx 600 \cdot 10^3$	$\approx 50 \cdot 10^3$	$\approx 100$	$\approx 600$

## 1.2 Markierungsreaktionen mit Fluor-18

Im letzten Jahrzehnt wurden auf dem Gebiet der organisch präparativen C-F-Funktionalisierungen konzeptionelle Fortschritte gemacht; dies besonders auf dem Gebiet der Organometall- und Übergangmetallkatalyse.<sup>18</sup> Die hohe Hydratationsenergie des Fluorids, hoch polarisierte Bindungen zum Fluor und starke Metall-Fluor-Bindungen stellen hierbei große Hürden dar.

Prinzipiell ist die Fluorierung von organischen Molekülen aus der makroskopischen Synthesechemie auf radiochemische Markierungsreaktionen übertragbar. Die trägerarme  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung nimmt im Vergleich zu der inaktiven Synthese mechanistisch erwartungsgemäß einen identischen Verlauf, kann aber aufgrund der geringen Konzentration der Aktivkomponente hinsichtlich der Ausbeute und Qualität stark variieren. So spielen Adsorptionseffekte an Gefäßoberflächen oder Nebenreaktionen mit Verunreinigungen aus eingesetzten kommerziellen Chemikalien (typische Reinheit 95 - 99 %) im Falle makroskopischer Fluorierungen eher eine untergeordnete Rolle. Weil jedoch das bei der trägerarmen  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung verwendete Nuklid nur im subnanomolaren Bereich vorliegt, können die Konzentrationen von Verunreinigungen noch um ein Vielfaches größer sein als die

des Radionuklids.<sup>19</sup> Dies erfordert einen sensiblen Umgang mit der Qualität und Reinheit der zur Radiosynthese verwendeten Utensilien und Chemikalien.

In den vergangenen Jahrzehnten sind eine Vielzahl unterschiedlichster elektrophiler und nukleophiler  $^{18}\text{F}$ -Markierungsmethoden entwickelt worden.<sup>11,20</sup> Dennoch basiert die trägerarme Produktion von Radiopharmaka aus den o. g. verfahrenstechnischen Gründen ausschließlich auf der Verwendung von nukleophilem  $^{18}\text{F}$ Fluorid, was zu einer eingeschränkten Flexibilität bezüglich der Auswahl von Synthesestrategien führt. Eine elektrophile  $^{18}\text{F}$ Fluorierung kann aufgrund des Trägerzusatzes bei der Darstellung des primären Fluorierungsreagenzes  $^{18}\text{F}\text{F}_2$  nur dann Anwendung finden, wenn auf hohe molare Aktivitäten verzichtet werden kann, weil keine toxischen oder pharmakologisch wirksamen Radiopharmaka zum Einsatz kommen.

Darüber hinaus wird die Wahl unterschiedlicher Synthesestrategien durch die kurze Halbwertszeit von Fluor-18 beschränkt, da sie die Notwendigkeit schneller Reaktionen nach sich zieht. Somit stehen die Beschränkung der Syntheseschritte sowie die Gesamtprozessdauer im Vordergrund jeder Prozessoptimierung. Im Allgemeinen sollen von der Einführung des Nuklids bis zum fertigen Syntheseprodukt inklusive Aufreinigung nicht mehr als drei Halbwertszeiten vergehen. Die Prozessoptimierung beinhaltet außerdem die Wahl geeigneter Vorläufer und Schutzgruppen und umfasst die Entscheidung für konkrete Prozesstypen und Reaktionsparameter, sowie die Entwicklung geeigneter Aufreinigungsmethoden.<sup>21</sup>

Der überwiegende Anteil der bis heute entwickelten Markierungsstrategien zur Einführung von Fluor-18 lässt sich wie eingangs erwähnt am sinnvollsten in elektrophile und nukleophile Substitutionen unterteilen.

### 1.2.1 Nukleophile Markierungen mit $^{18}\text{F}$ Fluorid

Die weitaus wichtigste Methode zur Einführung von Fluor-18 basiert auf dem nukleophilen Weg unter Verwendung von n.c.a.  $^{18}\text{F}$ Fluorid, welches mit hohen spezifischen Aktivitäten und mit guten Targetausbeuten hergestellt werden kann.<sup>11</sup> Produktionsbedingt liegt n.c.a.  $^{18}\text{F}$ Fluorid in einer wässrigen Lösung vor (vgl. Tabelle 2), sodass das Fluoridion infolge seiner hohen Ladungsdichte durch Hydratisierung für einen nukleophilen Angriff deaktiviert ist. Es bedarf daher einer speziellen Aktivierung.

### *Aktivierung des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids*

Eine häufig eingesetzte Methode zur Aufarbeitung sieht vor, das [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid unter gleichzeitiger Zurückgewinnung des angereicherten [ $^{18}\text{O}$ ]Wassers auf einem Anionenaustauscherharz zu fixieren.<sup>22</sup> Die Elution in ein organisches Solvens kann durch Zugabe des bicyclischen Aminopolyethers Kryptofix® 2.2.2 und Kaliumcarbonat erfolgen.<sup>23</sup> Im Anschluss wird eine azeotrope Destillation zur sukzessiven Abtrennung überschüssigen Wassers durchgeführt. Das gebildete Kryptatkation erhöht durch Komplexierung des Kaliumions in polar aprotischen Lösungsmitteln nicht nur die Nukleophilie des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids, sondern auch dessen Verfügbarkeit.<sup>11</sup> Als mögliches Anionenaktivatorsystem eignen sich neben der Kryptat-Carbonat-Variante auch Tetrabutylammoniumcarbonat und –hydrogencarbonat, die das [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid in Form von [ $^{18}\text{F}$ ]TBAF zu Verfügung stellen.<sup>24,25</sup>

Alternativ dazu ermöglicht die Elektrodeposition von [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid aus wässrigen Lösungen an einer Messingelektrode den Transfer in ein organisches Lösungsmittel.<sup>26</sup> Dieser elektrochemische Ansatz ist zwar mit einer Transferrate von 84 % sehr effizient, kommt aber ebenso nicht ohne die Verwendung von 0,6 % Wasser aus, sodass auf die azeotrope Destillation nicht verzichtet werden kann. Über einen ähnlichen elektrochemischen Verfahrensansatz wurde schon früher gezeigt, dass mit Sigradur®G als Elektrode ein Transfer des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids in ein organisches Solvens unter Verzicht auf den azeotropen Trocknungsschritt möglich ist.<sup>27</sup> Die Untersuchung an einer Durchflusszelle mit dem gleichen Elektrodenmaterial zeigt ebenfalls einen effektiven Transfer des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids in Ausbeuten um 60 % verglichen mit anderen Kohlenstoffmodifikationen.<sup>28</sup>

### *Aliphatische nukleophile Substitutionen*

Die nach der Bereitstellung des aktivierten [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids zur Verfügung stehenden Reaktionen wie die aliphatische nukleophile Substitution an organischen Molekülen verläuft in dipolar aprotischen Lösungsmitteln in der Regel nach dem klassischen  $\text{S}_{\text{N}}2$ -Mechanismus unter Inversion der Konfiguration.<sup>29</sup> Auf diese Weise wurde bereits eine Vielzahl pharmazeutisch interessanter Verbindungen hergestellt, die im klinischen Routinebetrieb zunehmend Einzug halten (vgl. Abbildung 1).<sup>30</sup>

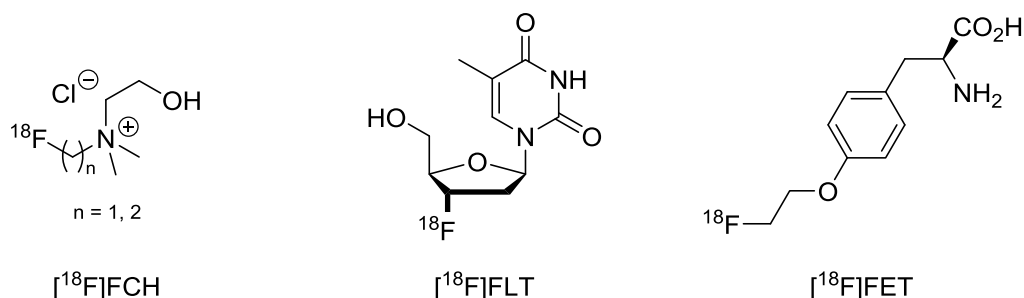
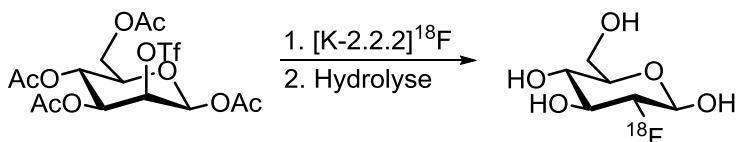


Abbildung 1: Wichtige  $^{18}\text{F}$ -markierte Tracer der klinischen Anwendung: [ $^{18}\text{F}$ ]Fluor(m)ethylcholin; 3'-Deoxy-3'-[ $^{18}\text{F}$ ]fluor-L-thymidin, [ $^{18}\text{F}$ ]FLT; O-2-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoroethyl-L-tyrosin, [ $^{18}\text{F}$ ]FET.

Als typische Abgangsgruppen für den nukleophilen Austausch durch [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid dienen Sulfonesterderivate wie Triflate, Tosylate oder Mesylate. Im Falle von O-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluor-methylierten aliphatischen oder aromatischen Ethern eignen sich alternativ auch 1,2,3-Triazoliumtriflate als Nukleofug für den Austausch durch Fluorid.<sup>31</sup>

Das heute wichtigste PET-Radiodiagnostikum zur Untersuchung des regionalen Glucosestoffwechsels 2-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluordeoxy-D-glucose ([ $^{18}\text{F}$ ]FDG) wird mittels  $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion stereospezifisch aus einem Mannose-Derivat synthetisiert. Die auf dem Triflatvorläufer basierende Synthese (vgl. Schema 1) beginnt mit der nukleophilen Substitution der Triflat-Funktion gegen [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid, gefolgt von der säurehydrolytischen Abspaltung der Schutzgruppen (vgl. Schema 1).<sup>15</sup>

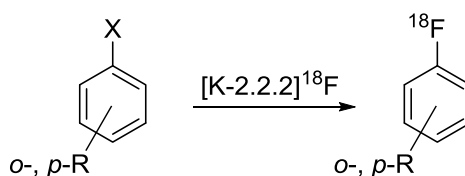


Schema 1: Darstellung von [ $^{18}\text{F}$ ]FDG durch nukleophile Substitution und anschließender Hydrolyse (nach 15).

### Aromatische nukleophile Substitutionen

Im Vergleich zu den aliphatischen Markierungsprodukten sind die durch aromatische nukleophile Substitution markierten Radiopharmaka meist stabiler gegenüber metabolischen Einflüssen.<sup>11</sup> Ihre Radiofluorierung erfordert jedoch besondere Maßnahmen. Im Vergleich zu den aliphatischen Markierungen sind häufig höhere Reaktionstemperaturen notwendig, was den Einsatz hochsiedender Lösungsmittel wie DMF oder DMSO erfordert. Neben einer geeigneten Abgangsgruppe wie einer Nitro- oder Cyanofunktion, sind für eine nukleophile aromatische Substitution ( $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ ) auch elektronenziehende Substituenten in *ortho*- oder *para*-Position zur Abgangs-

gruppe nötig. Aldehyde, Ketone oder Nitrile verringern die Elektronendichte über den -M-Effekt im Aromaten maßgeblich und aktivieren ihn somit für einen nukleophilen Angriff (vgl. Schema 2).<sup>32</sup> All diese Kriterien schränken das Spektrum der auf dem Weg der  $S_NAr$  erhältlichen Produkte stark ein.<sup>33</sup>



Schema 2: Nukleophile Darstellung radiofluorierter Aromaten mit  $X = \text{Br}, \text{Cl}, \text{I}, \text{NO}_2, \text{N}(\text{CH}_3)_3^+$  als Abgangsgruppen und  $R = \text{NO}_2, \text{CN}, \text{RHO}, \text{RCO}, \text{COOR}, \text{Cl}, \text{Cr}, \text{I}$  als aktivierende Substituenten (nach 11).

Insbesondere die  $N,N,N$ -Trimethylammoniumgruppe bewirkt als Abgangsgruppe aufgrund ihrer positiven Ladung eine effiziente Aktivierung, sodass bei Markierungsreaktionen höhere radiochemische Ausbeuten zu erreichen sind als beispielsweise mit CN-substituierten Aromaten.<sup>34</sup> So nimmt zum Beispiel, wie in Abbildung 2 zu sehen ist, mit zunehmender Elektronendichte im aromatischen System der Anteil des Nebenproduktes  $[^{18}\text{F}]$ Methylfluorid mehr und mehr zu. Diese konkurrierende Eliminierung wurde in Abhängigkeit von der Hammett-Konstante für eine Reihe von *para*-substituierten  $N,N,N$ -Trimethylammoniumarene systematisch untersucht.<sup>11</sup>

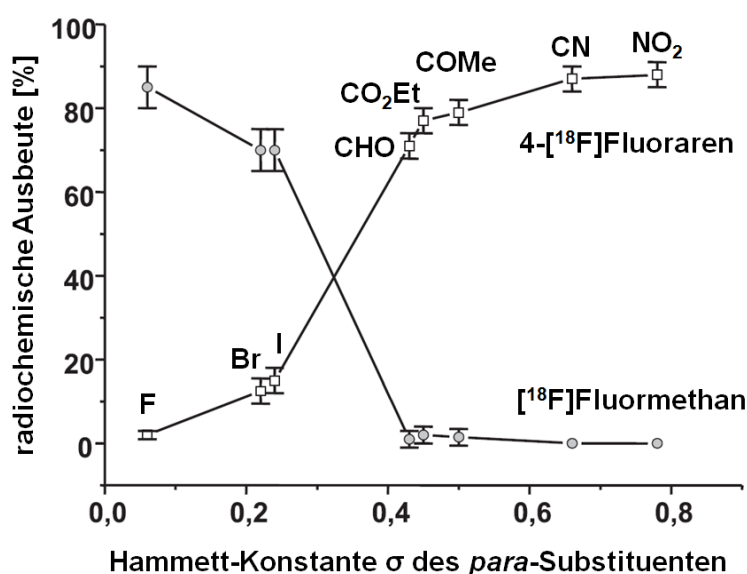
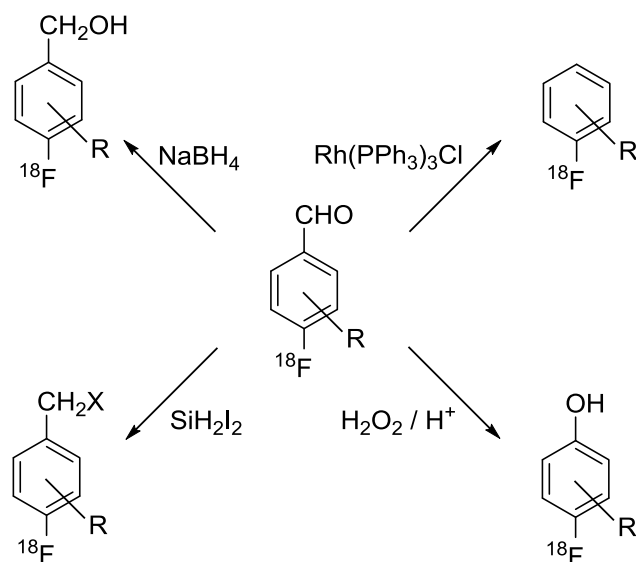


Abbildung 2: Abhängigkeit der Ausbeuten bei der  $S_NAr$ -Reaktion von  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid an  $N,N,N$ -Trimethylammoniumarenen vom elektronischen Einfluss des *para*-Substituenten (nach 11).

Es zeigt sich, dass schon bei nur schwach aktivierten Aromaten, wie den Halogenderivaten, der Anteil an Eliminierung und die Bildung von  $[^{18}\text{F}]$ Fluormethan deutlich zunimmt. Diese Verbindungen lassen sich erheblich besser mit z. B. hypervalenten Aryliod-Verbindungen darstellen. Sie bilden an elektronenreichen Aromaten ein elektrophiles Zentrum und sind seit langem bekannt für ihr Reaktionsvermögen mit Nukleophilen.<sup>35</sup> Häufig eignet sich diese Methode jedoch aufgrund unzugänglicher Iodoniumvorläufer nicht für eine Direktmarkierung komplexer Moleküle, was schließlich den Einsatz einer mehrstufigen Aufbausynthese erfordern kann.

### 1.2.2 Aufbausynthesen

Eine mehrstufige Aufbausynthese ausgehend von einem  $^{18}\text{F}$ -markierten Synthons das über gängige Radiofluorierungsmethoden erzeugt werden kann, ist besonders dann die Methode der Wahl, wenn ein Radiotracer über die bekannten Strategien nicht, oder nur mit unzureichender molarer Aktivität zugänglich ist.<sup>11</sup> Das gilt häufig für elektronenreiche Verbindungen, die keine Direktmarkierung zulassen oder für Peptide und Proteine. Wegen des fortschreitenden radioaktiven Zerfalls sollte die Radiomarkierung in der geplanten Syntheseroute so weit wie möglich am Ende erfolgen.

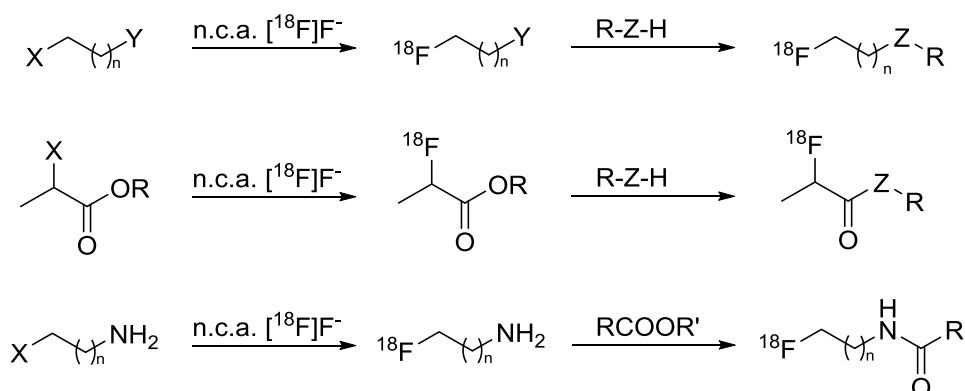


Schema 3: Beispiele für erzeugbare Synthons aus  $[^{18}\text{F}]$ Fluorbenzaldehyden (nach 36).

Als mögliche Synthons für derartige Aufbausynthesen eignen sich in erster Linie stabile Verbindungen, die sich über eine direkte Markierung in hohen Ausbeuten und gut von Nebenprodukten abtrennbar für eine Kopplung mit dem Zielmolekül zur

Verfügung stellen lassen. Mögliche aromatische Synthons sind zum Beispiel Derivate von 4- $^{18}\text{F}$ -Fluorbenzaldehyd (vgl. Schema 3).<sup>36</sup> Die für die  $^{18}\text{F}$ -Markierung aktivierende Aldehydfunktion kann über reduktive Reaktionsschritte entfernt oder zu Benzylhydroxiden und -halogenen umformiert werden. Über die Baeyer-Villiger Oxidation ist auch das Phenolderivat zugänglich.<sup>36</sup>

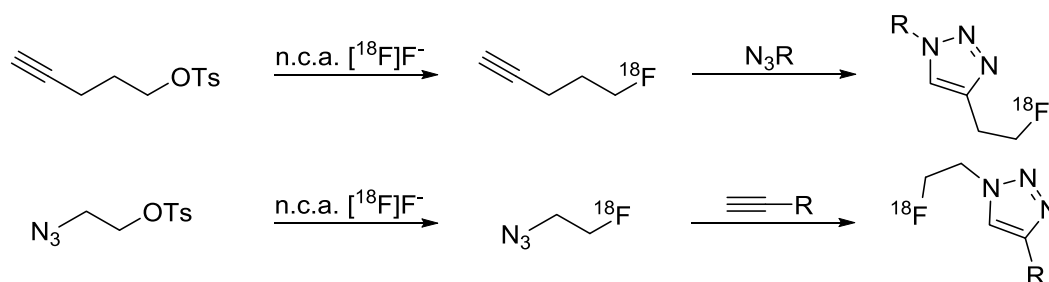
Eine vielseitige Methode zur Herstellung von Radiotraceren stellt die indirekte Markierung über  $^{18}\text{F}$ -Fluoralkyle,  $^{18}\text{F}$ -Fluoracycle und  $^{18}\text{F}$ -Fluoramine dar.<sup>37,38,39</sup> Hier wird zunächst durch eine aliphatische nukleophile Substitution mit n.c.a.  $^{18}\text{F}$ -Fluorid ein primärer Markierungsvorläufer, eine sog. prosthetische Gruppe, hergestellt, die in einem zweiten Syntheseschritt mit dem sekundären Vorläufer zur gewünschten Zielverbindung verknüpft werden kann. Inzwischen finden prosthetische Gruppen sowohl Anwendung bei der Markierung von Makromolekülen, wie Peptiden und Proteinen als auch bei der  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung von niedermolekularen Verbindungen, wie Neurotransmittern und Hormonen.



Schema 4: N.c.a.  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung über prosthetische Gruppen ( $\text{X}, \text{Y} = \text{Br}, \text{I}, \text{OTs}, \text{OTf}$ ;  $\text{Z} = \text{N}, \text{O}, \text{S}$ ;  $\text{R} = \text{Alkyl-}, \text{Arylgruppe}$ ; nach 11).

$^{18}\text{F}$ -Fluoralkylierungen gehören zu den am häufigsten verwendeten Techniken für die Markierung niedermolekularer Verbindungen mit Fluor-18.<sup>40,41</sup> Auf diese Weise konnte auch das  $^{18}\text{F}$ -markierte Aminosäurederivat  $^{18}\text{F}$ -FET (vgl. Abbildung 1) hergestellt werden.<sup>42</sup> Bei der dort zum Einsatz kommenden Fluoralkylierung wird ein symmetrisch substituiertes Bistosylatakan nach  $^{18}\text{F}$ -Markierung als Synthon an das Vorläufermolekül gekoppelt. Im Gegensatz zur  $^{18}\text{F}$ -Fluoralkylierung können die  $^{18}\text{F}$ -Fluoracylierung und die  $^{18}\text{F}$ -Fluoramidierung häufig auch unter wässrigen Bedingungen durchgeführt werden kann, was den Zugang zu  $^{18}\text{F}$ -markierten Proteinen und anderen Makromolekülen ermöglicht.<sup>43</sup>





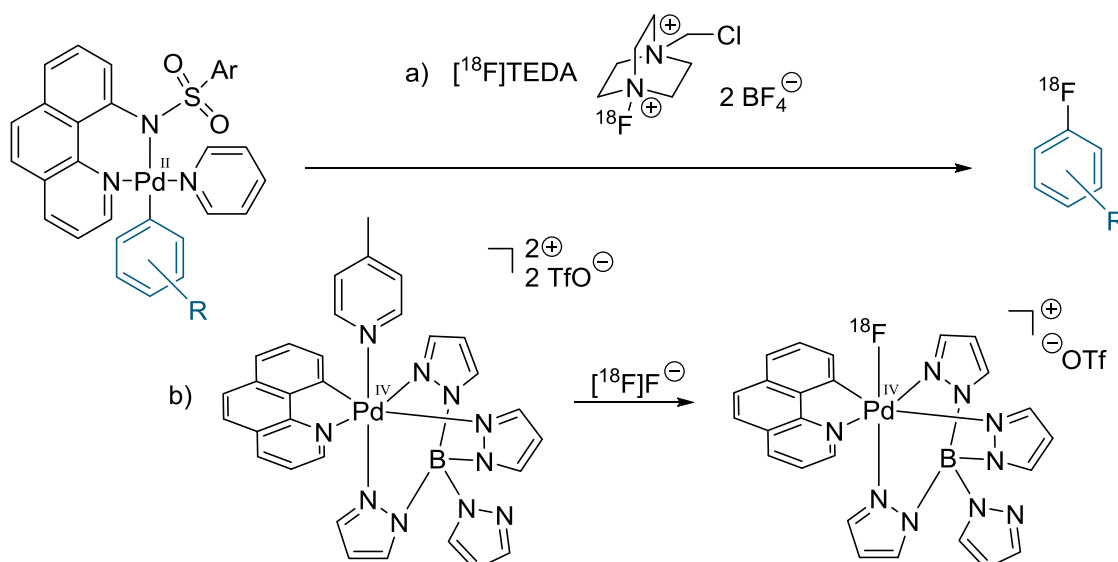
Schema 5: Radiofluorierungen über Click-Chemie.<sup>24</sup>

Neben den Fluoralkylierungen und -acylierungen findet ein ähnlicher Ansatz über die sogenannten „Click-Reaktionen“ seit der ersten Adaption auf die Fluor-18 Chemie im Jahr 2006 heute zunehmend Anwendung.<sup>24,44</sup> Der primäre Vorläufer wird auch hier zunächst über eine aliphatische  $S_N2$ -Reaktion dargestellt. Anschließend wird die daraus resultierende, entsprechend funktionalisierte prosthetische Gruppe Kupfer-katalysiert oft mit hoher Ausbeute über 1,3-dipolare Cycloadditionen unter Bildung von Triazenen an Makromoleküle gekoppelt (vgl. Schema 5).<sup>45</sup>

### 1.2.3 Übergangsmetallvermittelte $^{18}\text{F}$ -Fluorierungen

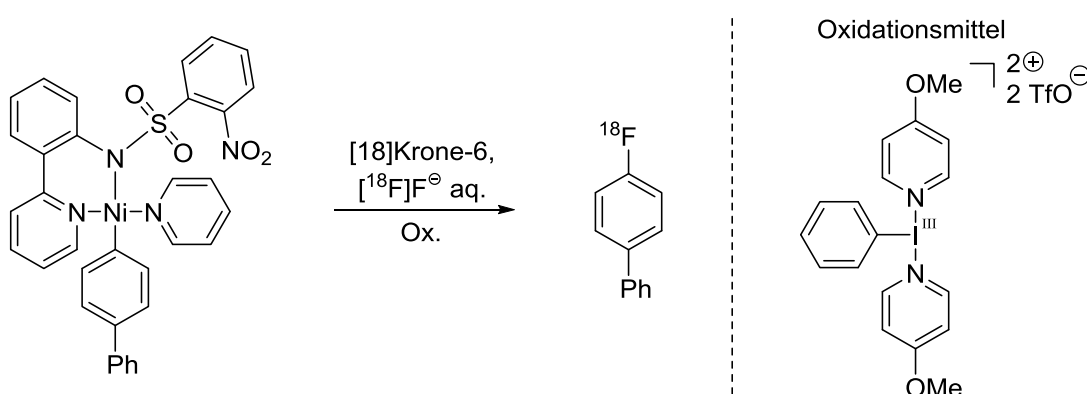
In jüngster Vergangenheit gelangen auch übergangsmetallvermittelte Reaktionen immer mehr in den Fokus der Radiochemie. So berichteten Lee et al. im Jahr 2011 über eine Pd-vermittelte „late-stage“  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung ausgehend von n.c.a.  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid.<sup>46</sup> Dabei wird zunächst das zu markierende Molekül in einen Pd-Komplex eingebunden und anschließend mit einem zweiten Pd-Komplex, der als  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenz dient, zur Reaktion gebracht (vgl. Schema 6).

Eine große Schwierigkeit bei dieser Anwendung ist die Darstellung der Pd-Komplexe, welche nur unter extrem trockenen Bedingungen gehandhabt werden können. Der Pd(IV)- $[^{18}\text{F}]$ Fluorid-Komplex ist jedoch gegenüber Wasser und thermisch bis 100 °C stabil.<sup>47</sup> Auch der Mechanismus dieser Reaktion ist näher studiert worden.<sup>48</sup> Der intermediäre Pd(IV)- $^{18}\text{F}$ -Ionenpaarkomplex entsteht selbst mit nano- bis mikromolaren Fluorid-Konzentrationen, wie für Radiosynthesen üblich, mit hohen Bildungsraten. Der anschließende Transfer von Fluor-18 aus dem Pd(IV)-Komplex zum Nukleophil verläuft über einen SET/Fluorid-Transfer/SET-Mechanismus (SET = engl. single electron transfer, Eielektrontransfer).



Schema 6: Elektrophile Radiofluorierung mittels Pd-Edukt-Komplex mit a) [<sup>18</sup>F]TEDA oder b) über einen Pd(IV)-[<sup>18</sup>F]Fluorid-Komplex.<sup>46</sup>

Eine Modifizierung dieser Methode wurde basierend auf einem weniger sensitiven Ni-Komplex entwickelt, mit dem eine deutlich höhere radiochemische Ausbeute erreicht wird (vgl. Schema 7).<sup>49</sup>

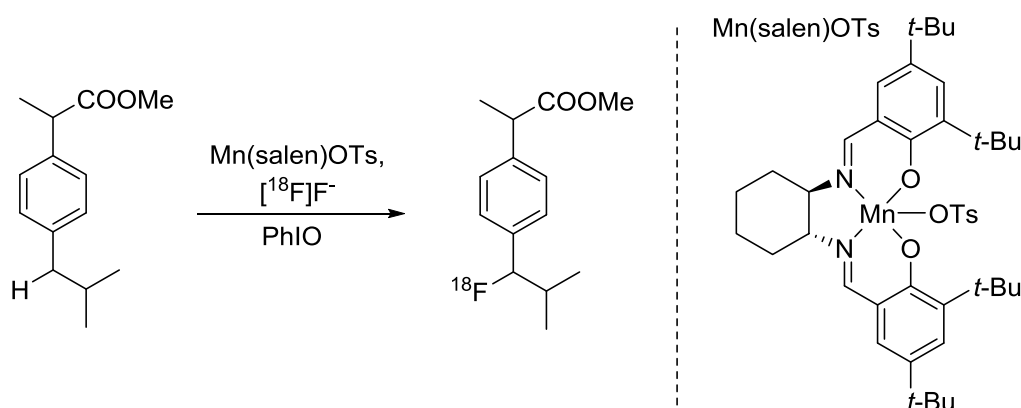


Schema 7: Ni-vermittelte n.c.a. <sup>18</sup>F-Fluorierung einfacher aromatischer Verbindungen.<sup>49</sup>

Bei dieser Synthese werden Aryl-Ni-Komplexe direkt oxidativ in Anwesenheit einer hypervalenten Iodverbindung und des Aktivators [18]Krone-6 in einer wässrigen [<sup>18</sup>F]Fluorid-Lösung zu den entsprechenden [<sup>18</sup>F]Arylfluoriden umgesetzt. Wenngleich der Ni-Komplex hier deutlich stabiler ist als der vergleichbare Pd-Komplex, so besteht hier das Problem der sehr hohen Instabilität des Oxidationsmittels.

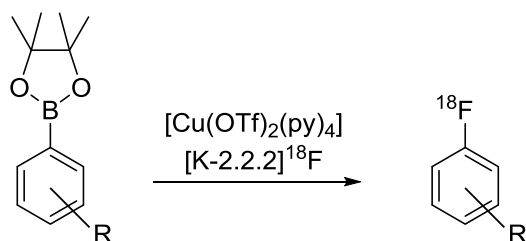
In der organisch-präparativen Chemie sind viele Möglichkeiten zur Bildung einer C-F-Bindung an sp<sup>3</sup>-hybridisierten Zentren bekannt.<sup>50</sup> Kürzlich wurde eine Methode vorgestellt, bei der ein Mn-Komplex die benzyliche C-H-Funktionalisierung mit n.c.a. [<sup>18</sup>F]Fluorid in Anwesenheit des Oxidationsmittels Iodosobenzen katalysiert

(vgl. Schema 8).<sup>51</sup> Der Mn(salen)OTs-Komplex dient dabei als Fluortransferkatalysator und ermöglicht die Markierung ohne vorheriges Aktivieren des Vorläufers. Außerdem kann das [<sup>18</sup>F]Fluorid mit diesem Katalysator auch von einem Anionentauscherharz eluiert werden, sodass auf weitere Reagenzien verzichtet werden kann. Auf diese Weise konnten eine ganze Reihe von pharmazeutisch relevanten Verbindungen markiert werden.



Schema 8: Mn-katalysierte benzyliche n.c.a. <sup>18</sup>F-Funktionlisierung von einfachen aromatischen Systemen.

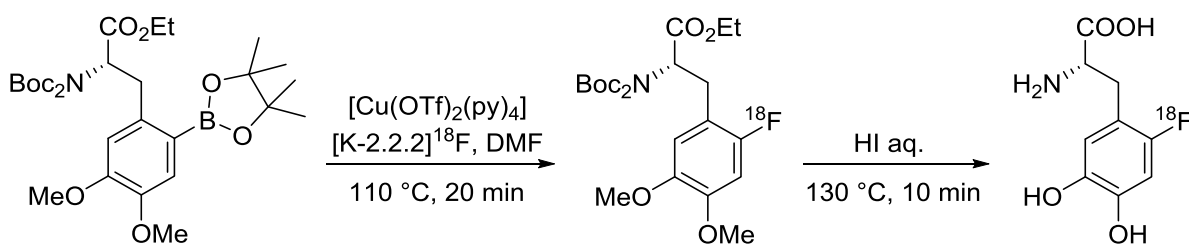
Von besonderem Interesse sind die Kupfer-vermittelten Reaktionen von organischen Boronsäureestern mit n.c.a. [<sup>18</sup>F]Fluorid (vgl. Schema 9).<sup>52</sup> Diese Fluorierungsmethode wurde auf die unterschiedlichsten aromatischen Systeme adaptiert, und sie toleriert eine Vielzahl von funktionellen Gruppen. Die Markierungsvorläufer sind leicht über die Miyaura-Borylierung der entsprechenden Halogenaromaten in Anwesenheit katalytischer Mengen Pd(Cl)<sub>2</sub>(dppf) und des Pinakolesters der Diboronsäure (Bis(pinakolato)diboron, B<sub>2</sub>pin<sub>2</sub>) darstellbar.<sup>53,54</sup> Auch der Kupferkomplex Cu(OTf)<sub>2</sub>(py)<sub>4</sub> ist leicht zugänglich, lange haltbar und vergleichsweise robust.<sup>55</sup>



Schema 9: Kupfer(II)-vermittelte n.c.a. <sup>18</sup>F-Fluorierung von Arylboronsäureestern.

Der Mechanismus verläuft möglicherweise analog zur Chan-Lam Kreuzkupplung.<sup>56</sup> Das Fluorid koordiniert zunächst an den Kupfer-Komplex und verdrängt einen Triflat-Liganden, bevor durch Transmetallierung auch die Arylfunktion an den Komplex

bindet. Das Kupplungsprodukt wird dann nach der reduktiven Eliminierung erhalten. Vermutlich ist auch eine Disproportionierung von Kupfer(II) zu den Oxidationsstufen +1 und +3 verantwortlich für die Effektivität der reduktiven Eliminierung.<sup>57</sup> Als prominentes Beispiel wurde auf diese Weise die Verbindung 6-[<sup>18</sup>F]Fluor-L-DOPA trägerarm hergestellt (vgl. Schema 10).<sup>52</sup> Im Vergleich zu anderen Übergangsmetall-vermittelten oder -katalysierten Reaktionen ist hier die Anwendung am Patienten, mit auf diese Weise hergestellten Radiopharmaka, durch die Verwendung von Cu<sup>2+</sup> weniger bedenklich.



Schema 10: Kupfer(II)-vermittelte Darstellung von 6-[<sup>18</sup>F]Fluor-L-DOPA (nach 52).

L-6-[<sup>18</sup>F]FDOPA wird erfolgreich zur Diagnose und Therapiekontrolle bei Parkinson-erkrankungen eingesetzt, sodass nach wie vor große Anstrengungen hinsichtlich der Entwicklung von effizienten nukleophilen Syntheserouten für die Darstellung dieses Tracers unternommen werden.<sup>58</sup>

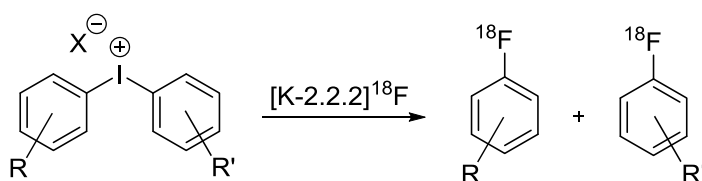
Mit einer isolierbaren radiochemischen Ausbeute von etwa 12 % wurde gezeigt, dass diese vielversprechende Syntheseroute auf einen Produktionsmaßstab übertragbar ist, wie er für klinische Studien notwendig ist.<sup>52</sup> Eine Herausforderung ist jedoch die Übertragung der Reaktionsbedingungen auf ein Eintopfverfahren in einem kommerziell nutzbaren Synthesemodul. Insbesondere die Bereitstellung und Aktivierung des [<sup>18</sup>F]Fluorids geschieht im gegenwärtigen Prozess über eine separate mikrofluidische Apparatur, was mit einem erheblichen technischen Mehraufwand verbunden ist. Dennoch entspricht die Qualität, vor allem die Enantiomerenreinheit des 6-[<sup>18</sup>F]Fluor-L-DOPA, den strengen Anforderungen des europäischen Arzneibuches und bietet daher ein enormes Potential, in der Routineproduktion zukünftig einen festen Stellenwert einzunehmen.

#### 1.2.4 Radiofluorierungen über hypervalente Verbindungen des Iods

Eine Unterklasse von hypervalenten Iodverbindungen eignet sich zur Umsetzung mit Nukleophilen.<sup>59</sup> Vor allem für Radiofluorierungen sind hier an erster Stelle die

Diaryliodoniumsalze zu nennen. Nach ihrer ersten Anwendung mit makroskopischen Mengen Fluorid durch *van der Puy* 1982 demonstrierten *Pike et al.* 1995 eine auf die Radiochemie transferierte Anwendung.<sup>60,61</sup> Inzwischen wurde dieser Ansatz stets weiterentwickelt, vor allem weil er die n.c.a  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung sogar an elektronenreiche Aromaten ermöglicht, die prinzipiell für die direkte nukleophile Substitution desaktiviert sind.

Das Iodoniumsalz definiert sich über das Iodoniumkation, in welchem ein hypervalentes Iod(III)-Atom C-I-Bindungen zu zwei organischen Gruppen ausbildet. Die Diaryliodoniumsalze mit jeweils zwei aromatischen Gruppen bilden die stabilsten Verbindungen dieser Stoffklasse. Als korrespondierendes Anion wird meist ein Halogen, ein Triflat oder ein Tosylat eingesetzt. Bei diesen Markierungsreaktionen wird einer der beiden an das Iodoniumzentrum gebundenen Aromaten  $^{18}\text{F}$ -fluoriert, wohingegen der andere als Abgangsgruppe in Form seines Iodaryls fungiert. Zur Vermeidung von Nebenprodukten wurden häufig symmetrische Verbindungen markiert.<sup>62,63</sup> Im Falle von unsymmetrischen Iodoniumsalzen können jedoch prinzipiell zwei Substitutionsprodukte entstehen (vgl. Schema 11).



Schema 11: Prinzip der  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung von unsymmetrischen Diaryliodoniumsalzen.

Die nach Angriff durch  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid entstehenden Produktverhältnisse sind stark von elektronischen und sterischen Charakter jedes Aryl-Rings abhängig. Bei asymmetrischen Iodoniumsalzen wird entsprechend das elektronenärmere System für einen nukleophilen Angriff bevorzugt, sodass der als Abgangsgruppe fungierende Arylring möglichst elektronenreich sein sollte, wie am Beispiel von 4-Methoxyphenyl- oder 2-Thienyliodoniumarylen gezeigt wurde.<sup>61,64</sup>

Der Mechanismus wird in Ermangelung spezieller, dahingehender Untersuchungen immer noch kontrovers diskutiert. Eine Überlegung basiert auf einer  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ -analogen Variante. Hier soll die Iod(III)-Funktion einen aktivierenden Einfluss auf das Nukleophil haben. Als Konsequenz bildet das Nukleophil eine kovalente Bindung zum Iodzentrum aus. Das auf diese Weise entstandene pseudo trigonal-bipyramidale Intermediat (in Übereinstimmung mit Kristallstrukturdaten) erfährt im Anschluss eine

intramolekulare aromatische Substitution ( $S_NAr$ -Kollaps, vgl. Abbildung 3 A).<sup>65</sup> Dieser Mechanismus würde auch den häufig beobachteten *ortho*-Effekt erklären, bei dem die Substitution bevorzugt am äquatorialen Aromaten stattfindet, der aufgrund sterischer Anforderungen den Substituenten in *ortho*-Position trägt.

Grushin et al.<sup>66</sup> schlugen jedoch nicht zuletzt wegen des Symmetrieverbotes solcher apikal-äquatorialer Wechselwirkungen in trigonal-bipyramidalen Komplexen den Mechanismus B (vgl. Abbildung 3) vor. Die Eliminierung des Produktes soll hier aus der tetragonal-pyramidalen Zwischenstufe einer Berry-Pseudorotation heraus stattfinden.

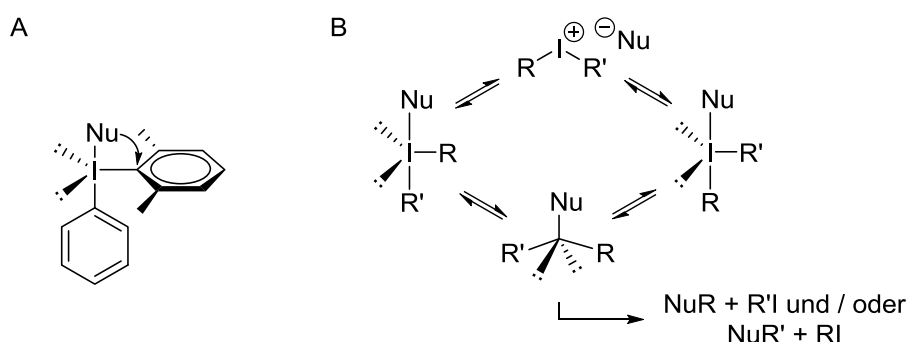
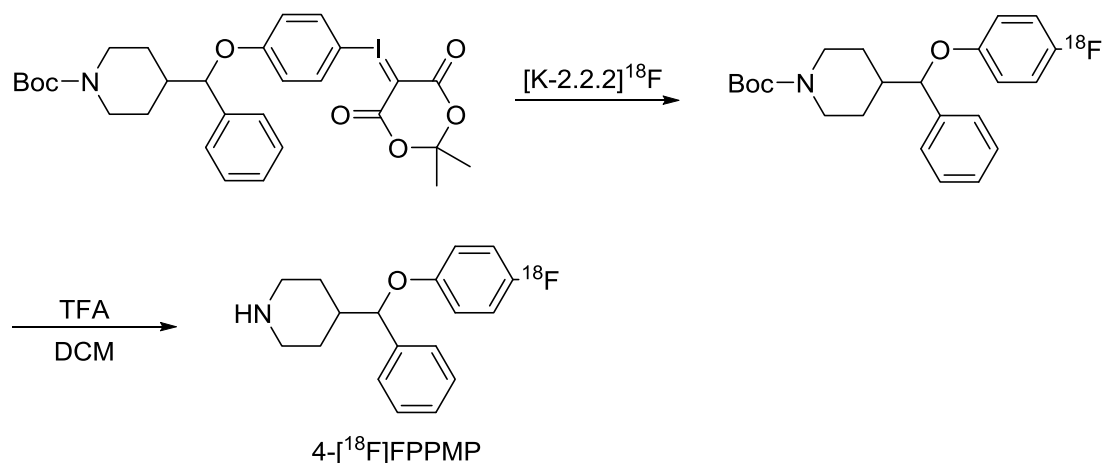


Abbildung 3: Zwei Vorschläge für den Mechanismus der nukleophilen  $^{18}\text{F}$ -Substitution an Iodoniumverbindungen (nach 66).

Aufgrund ihrer chemischen Eigenschaften ist der Gebrauch von Iodoniumsalzen auf kleine Moleküle oder Synthons limitiert. Als mögliche Alternative wurden in jüngerer Vergangenheit für komplexere elektronenreiche Verbindungen Aryliodoniumylide als Vorläufer für die direkte Radiofluorierung eingesetzt. Satyamurthy und Barrio testeten zur nukleophilen Umsetzung mit  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid die Eignung von Yliden, die sich von 1,3-Diketonen, 1,3-Diestern und insbesondere von 2,2-Dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dione (Meldrumsäure) ableiten. Letztere vermögen wegen ihrer hohen Stabilität und guten Markierungsausbeuten besonders vielversprechend die Lücke der fehlenden Direktmarkierungen zu elektronenreichen Fluoraromaten zu schließen.<sup>36,67</sup> Ein Anwendungsbeispiel ist die trägerarme Radiofluorierung des NET- (Norepinephrin-Transporter) und SERT- (Serotonin-Transporter) Liganden 4- $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenoxy-phenylmethyl)piperidin (4- $[^{18}\text{F}]$ FPPMP) über das korrespondierende Iodoniumylid (vgl. Schema 12).<sup>68</sup>



Schema 12: Radiosynthese von 4-[<sup>18</sup>F]FPPMP ausgehend vom korrespondierenden Iodoniumylid (nach 68).

Diese Synthese liefert den Transporterliganden mit einer RCA von etwa 20 %. Überraschenderweise substituiert das Nukleophil zu etwa 10 % auch in *ortho*-Position zur Abgangsgruppe unter Bildung von 3-[<sup>18</sup>F]FPPMP. Dieses Verhalten wurde auch mit kleineren Vorläufern wie 4-Methoxyphenyl-(5-[2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion])ylid und 4-Benzoyloxyphenyliodonium-(5-[2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion])ylid überprüft. Die fehlende Regioselektivität ist bisher im Einzelnen nicht untersucht worden, könnte jedoch ein Resultat einer während der Substitution stattfindenden Umlagerung sein.<sup>68</sup>

### 1.2.5 Elektrochemische Markierungen mit Fluor-18

#### Grundlagen der Elektrosynthese

Gegenüber der konventionellen etablierten Synthesechemie bietet die organische Elektrosynthese bei einigen Reaktionen verschiedene Vorteile. So lässt sich beispielsweise die Selektivität einer Reaktion durch die angelegte Spannung beeinflussen.<sup>69</sup> Die Bildung von Radikalen während einer Elektrosynthese sollte erwartungsgemäß zur Bildung einer Vielzahl von Nebenprodukten führen. Dennoch ist das Produktspektrum einiger Verfahren vergleichsweise klein.<sup>69</sup> Elektrochemische Prozesse kommen in der Regel mit moderaten Reaktionsbedingungen bezogen auf Temperatur und Druck aus und lassen sich verfahrenstechnisch leicht automatisieren.<sup>69</sup> Der heterogene Elektronentransfer erleichtert zudem die anschließende Aufarbeitung, weil der Reaktionslösung keine störenden Redox-Reagenzien beigelegt werden müssen. Andererseits kann jedoch das für die Leitfähigkeit erforderliche Leitsalz zusätzliche Aufarbeitungsschritte erfordern.

Die vielfältigen mechanistischen Teilschritte einer elektrochemischen Redoxreaktion, wie Adsorption und Desorption an die Elektrodenoberfläche, die Übertragung von Elektronen in einem oder mehreren Schritten sowie vorangehende oder sich anschließende chemische Reaktionen, werden durch die Eigenschaften der Elektrode beeinflusst. Dabei sind neben ihrer chemischen Zusammensetzung auch die Morphologie und Porosität entscheidend für den Ablauf einer Elektrosynthese.

Ein wichtiges Kriterium für die Auswahl eines geeigneten Elektrodenmaterials ist die Beständigkeit. Für partielle Fluorierungsbedingungen eignen sich in besonderer Weise Platin und Glaskohlenstoff. Diese Materialien sind in einem weiten Potentialbereich ( $\Delta U \approx 3 \text{ V}$ ) gegenüber der Bildung eines passivierenden Fluorid-Films inert und damit für die anodische Oxidation von organischen Substraten geeignet.<sup>70</sup> Dennoch ist eine Korrosion, abhängig von pH-Wert und der Elektrolytzusammensetzung, nicht gänzlich auszuschließen.<sup>71</sup>

Glaskohlenstoff ist in vielerlei Hinsicht eine günstige Alternative zu Platin. Die schwarz glänzende Kohlenstoffmodifikation besitzt neben hohen graphitischen Anteilen fullerenartige Mikrostrukturen und zeichnet sich durch ihre besonders hohe chemische Beständigkeit aus.<sup>72</sup> Die spezifische Leitfähigkeit liegt mit  $10^4 - 10^6 \text{ S/m}$  in einer ähnlichen Größenordnung wie die für Platin ( $\sigma_{\text{Pt}} = 9,48 \cdot 10^6 \text{ S/m}$ ).<sup>73</sup>

Zur den Kohlenstoffelektroden zählen auch Bor-dotierte Diamantelektroden (BDD-Elektroden). Durch chemische Gasphasenabscheidung wird auf unterschiedliche Träger wie Silicium, Titan oder Wolfram eine dünne ( $\approx 10 \text{ }\mu\text{m}$ ), sehr beständige polykristalline Diamantschicht aufgetragen. Die spezifische Leitfähigkeit wird durch die p-Dotierung mit Bor individuell eingestellt.<sup>71,74</sup> Dieses Elektrodenmaterial findet heutzutage komplexe und zahlreiche Anwendungen in der Wasserdessinfektion, der anorganischen und organischen Elektrosynthese sowie in Elektroanalytik und Energieforschung.<sup>75</sup> Neben Sigradur® und anderen Kohlenstoffmodifikationen wurde dieses Material in der Radiochemie zur Aufarbeitung des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids getestet (vgl. Kapitel 1.2.1).<sup>28</sup>

Die Auswahlkriterien für ein geeignetes Lösungsmittel beschränken sich bei Elektrosynthesen im Wesentlichen auf die Lösungseigenschaften hinsichtlich der eingesetzten Substrate und auf das Potentialfenster. Die Grenzpotentiale gängiger Lösungsmittel sind in Tabelle 3 aufgelistet.



Eine besonders ausgeprägte Stabilität bei kathodischer Polarisation weisen die Lösungsmittel Tetrahydrofuran (THF), Acetonitril (MeCN) und *N,N*-Dimethylformamid (DMF) auf. Gegen anodische Zersetzung sind Pyridin, Nitromethan und ebenfalls Acetonitril sehr stabil. Mit einem Potentialfenster von 5,3 V ist Acetonitril in einem breiten Anwendungsbereich einsetzbar.<sup>73</sup> Es löst nicht nur viele organische Substrate, sondern auch einige organische und anorganische Salze, weshalb Acetonitril eines der am häufigsten verwendeten Lösungsmittel in der Elektrochemie ist.

*Tabelle 3: Grenzpotentiale ( $U_k$ ) gängiger Lösungsmittel bei 25 °C geordnet nach steigender Dielektrizitätskonstante ( $E$ ) (0,1 M  $[NBu_4]ClO_4$ , Platin, Potential bei 0,1 mA/cm<sup>2</sup>; nach 73).*

Lösungsmittel	$E$	$U_k$ [V] kathodisch	$U_k$ [V] anodisch
Tetrahydrofuran	7,6	-3,3 <sup>a</sup>	+2,1 <sup>a</sup>
Pyridin	12,0	-2,2	+3,3
Aceton	21,0	-1,6	+1,6
Methanol	31,5	-2,2 <sup>b</sup>	+1,3
Nitromethan	35,7	-2,4 <sup>a</sup>	+3,0 <sup>a</sup>
Acetonitril	36,2	-2,6	+2,7
<i>N,N</i> -Dimethylformamid	36,7	-2,7	+1,5
Wasser	80	-2,9 <sup>b</sup>	+1,4
a) Natriumacetat    b) Quecksilber-Elektrode			

Organische Lösungsmittel können wegen ihrer geringen elektrischen Leitfähigkeit üblicherweise nur nach Zusatz eines Leitsalzes für Elektrosynthesen oder elektroanalytische Verfahren eingesetzt werden. Es lassen sich je nach Anforderung bezüglich der Redoxstabilität unterschiedliche Kombinationen aus Kationen und Anionen für ein Leitsalz zusammenstellen.<sup>76</sup>

Als Kationen werden häufig Lithium-, Natrium- oder Tetraalkylammonium-Ionen verwendet. Beispielsweise wird Lithium aufgrund der guten Löslichkeit als Perchlorat in vielen organischen Lösungsmitteln eingesetzt. Aufgrund der höheren Stabilität gegenüber der anodischen Oxidation werden bevorzugt Tetrafluoroborate oder Hexafluorophosphate als Anionen eingesetzt. In Acetonitril liegt die anodische

Potentialgrenze vom Perchlorat bei 2,6 V, wohingegen das Hexafluorophosphat mit 3,2 V eine deutlich größere Oxidationsstabilität ausweist (0,1 M bei 25 °C und 0,1 mA cm<sup>-2</sup> an Platin).<sup>76</sup>

### ***Ionische Flüssigkeiten in der Elektrosynthese***

Die Kombinationsmöglichkeiten aus Elektrodenmaterial, Lösungsmittel und Leitsalz abgestimmt auf die Reaktionsbedingungen, auf das Edukt und auf das entstehende Produkt, sind sehr vielfältig. Bei der Entwicklung eines Elektrosyntheseverfahrens können daher ionische Flüssigkeiten vorteilhaft sein. Sie vereinen mehrere der geforderten Eigenschaften in einer Substanz und erfreuen sich daher immer größerer Beliebtheit.<sup>77</sup>

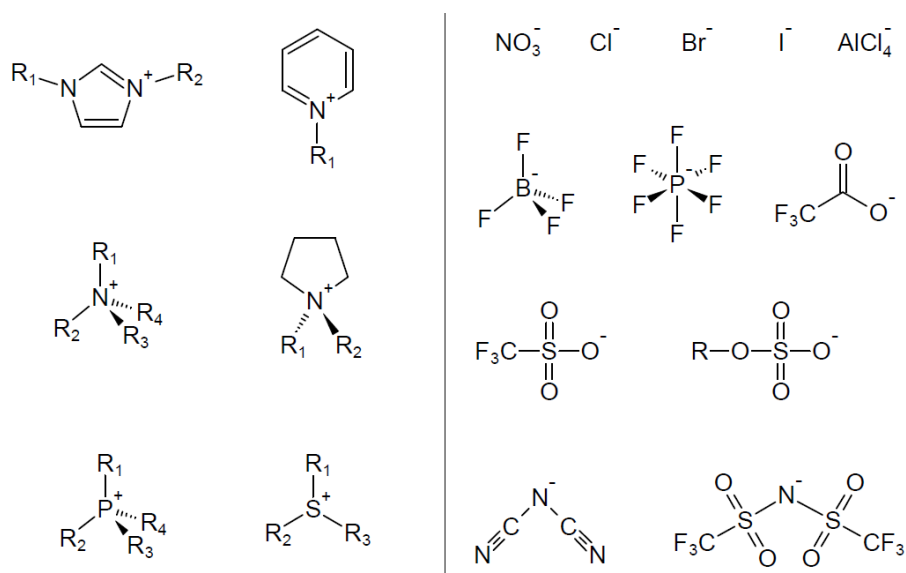


Abbildung 4: Gebräuchliche Kationen und Anionen von ionischen Flüssigkeiten.

Besonders kennzeichnend ist ihr niedriger Schmelzpunkt, der durch eine gezielte Auswahl der beteiligten Kationen und Anionen (vgl. Abbildung 4) im Vergleich zu den gewöhnlichen Salzen wie etwa Natriumchlorid (Smp. ca. 800 °C), drastisch gesenkt werden kann. So sind besonders die bei Raumtemperatur flüssigen Salze („room temperature ionic liquids“, RTILs) als Lösungsmittel für Elektrosynthesen geeignet.<sup>77</sup> Wegen ihrer hohen Ionenleitfähigkeit dienen sie gleichzeitig als Leitsalz, sodass RTILs die Funktionen des Lösungsmittels sowie die des Leitsalzes in sich vereinen.

Durch die Vielzahl an Kombinationsmöglichkeiten von Kationen und Anionen lassen sich die physikochemischen Eigenschaften individuell gestalten. Die Verlängerung der Alkylketten am Kation bewirkt beispielsweise aufgrund stärkerer van-der-Waals-Wechselwirkungen eine Erhöhung der Viskosität; das Lösungsmittel wird

lipophiler.<sup>78,79</sup> Die elektrische Leitfähigkeit von RTILs ist reziprok an die Viskosität gekoppelt, sodass abhängig von der Beweglichkeit der Ladungsträger, der Größe der Ionen, der Delokalisierung der negativen Ladung im Anion sowie der Wechselwirkung zwischen Anion und Kation die Leitfähigkeit Werte von 0,1 - 20 mS/cm erreichen kann.<sup>78</sup>

Neben den Lösungsmiteileigenschaften und der elektrischen Leitfähigkeit ist die Redoxstabilität ein wichtiges Kriterium bei der Auswahl ionischer Flüssigkeiten für elektrochemische Anwendungen. Das Potentialfenster einer RTIL grenzt an das kathodische und das anodische Zersetzungspotential und gibt Auskunft über ihre Redoxstabilität. Typische Potentialfenster erstrecken sich abhängig vom Elektroden-System über einen Bereich von 4,5 bis 5 V.<sup>78</sup> Mit einem Wert von 7 V hat 1-Butyl-3-methylimidazoliumtetrafluoroborat (BMImBF<sub>4</sub>) eines der größten Potentialfenster unter den RTILs.<sup>80</sup>

Diese besonderen Eigenschaften machen ionische Flüssigkeiten nicht nur für elektrochemische Anwendungen attraktiv. 2004 wurde beispielsweise von einer zeitsparenden Synthese des Radiotracers [<sup>18</sup>F]FDG unter Verwendung einer RTIL berichtet, bei der auf die azeotrope Trocknung verzichtet werden kann.<sup>81</sup> Für die Routineproduktion hat dieses Verfahren gegenüber den etablierten Prozessen jedoch keine weiteren Vorteile und wegen niedriger Ausbeuten nicht den Weg in die Routine gefunden.

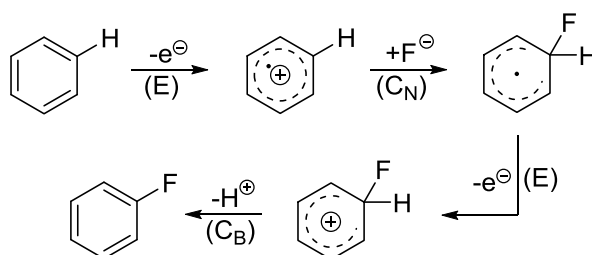
### **Anodische Fluorierungen**

Als Alternative zur konventionellen organischen Synthesechemie hat die Elektrochemie bezüglich der Fluorierung organischer Substrate einige bedeutende Synthesemethoden hervorgebracht.<sup>82</sup>

Bei hohen Spannungen (5-7 V) und Stromdichten von bis zu 25 mA/cm<sup>2</sup> werden unter drastischen Bedingungen anodische Fluorierungen nach dem Phillips-Prozess oder nach dem Simons-Prozess in Anwesenheit großer Mengen an Kaliumfluorid und Fluorwasserstoff durchgeführt. Beide Elektrosyntheseverfahren führen wenig selektiv zu mono- und polyfluorierten Derivaten der eingesetzten Substrate.

Von weitaus größerem Interesse für diese Arbeit sind jedoch die Methoden der partiellen Fluorierungen. Sie kommen mit deutlich niedrigeren Fluoridkonzentrationen aus (0,1 – 1 mol/L) und können in aprotischen Lösungsmitteln wie Acetonitril oder

Nitromethan in Anwesenheit von Fluorwasserstoff oder Ammoniumtetrafluoroboraten durchgeführt werden. In einem Gemisch aus Acetonitril und  $R_4NF \cdot 3HF$  wurden so zum Beispiel monofluorierte Derivate von Benzol und Naphthalin hergestellt.<sup>83,84</sup> Das Potential der Platin-Anode wurde so gewählt, dass es zwischen dem Oxidationspotential des Substrates und dem von Fluor ( $> 2,9$  V vs. Kalomel-Elektrode an Platin in Acetonitril)<sup>82</sup> liegt. Die Bildung von elementarem Fluor kann also kein Bestandteil des Reaktionsmechanismus sein, der für die partielle elektrochemische Fluorierung postuliert wurde (vgl. Schema 13).<sup>85</sup>



Schema 13: Postulierter  $EC_NEC_B$  Mechanismus für die anodische Fluorierung (nach 85).

Das an die Anode diffundierte Benzol wird im ersten Schritt über einen Eielektrontransfer zu einem Radikalkation oxidiert (elektrochemische Reaktion E, vgl. Schema 13), gefolgt vom nukleophilen Angriff des Fluoridions (chemische Reaktion C<sub>N</sub>). Das entstehende Radikal wird erneut oxidiert (elektrochemische Reaktion E) und liefert nach Deprotonierung (chemische Reaktion C<sub>B</sub>) unter Rearomatisierung das monofluorierte Produkt.

### Spezielle anodische $^{18}F$ -Fluorierungen

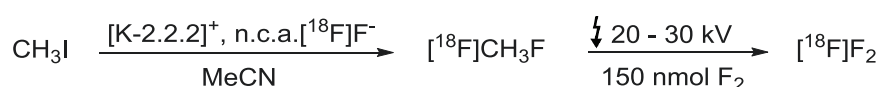
Die speziellen anodischen Fluorierungen mit  $[^{18}F]$ Fluorid beschränken sich nicht zuletzt aufgrund des höheren technischen Aufwandes, niedriger radiochemischer Ausbeuten und effektiverer Alternativmethoden nur auf wenige Beispiele. So gelingt die elektrochemische Radiofluorierung von Benzol an Platin in Anwesenheit von  $[^{18}F]$ Fluorid und isotopem Träger zu  $[^{18}F]$ Fluorbenzol mit einer radiochemischen Ausbeute von 15 %.<sup>86</sup> Die maximal erreichbare molare Aktivität liegt mit 27 GBq/mmol in der Größenordnung elektrophiler aromatischer Substitutionen mit  $[^{18}F]F_2$ . Mit ähnlichen Ergebnissen konnten Phenylalaninderivate nach anodischer Oxidation elektrochemisch mit einer radiochemischen Ausbeute von etwa 10 % radiofluoriert werden.<sup>87</sup> Insgesamt ist diese Methode heute für Markierungen nur

noch von akademischem Interesse und hat bislang keinen festen Stellenwert bei Routineanwendungen.

### 1.2.6 Elektrophile Markierungen mit Fluor-18

Die Anwendungen der elektrophilen Markierung mit  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  sind aufgrund des produktionsbedingten Trägerzusatzes und der geringen erreichbaren radiochemischen Ausbeute von maximal 50 % deutlich eingeschränkt. Daher ist diese Art von Markierungsreaktion nur dann von praktischer Bedeutung, wenn auf hohe ökonomische Effizienz insbesondere hinsichtlich der höheren Nuklidproduktionskosten sowie auf eine hohe molare Aktivität verzichtet werden kann.

1997 berichteten *Bergman* und *Solin* über eine Möglichkeit zur Herstellung von  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  mit höheren spezifischen Aktivitäten.<sup>88</sup> Dabei stellten sie über eine nukleophile Substitution von n.c.a.  $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$  an Methyljodid  $[^{18}\text{F}]\text{Methylfluorid}$  mit einer radiochemischen Ausbeute von 75 % her. Eine anschließende elektrische Entladung in Gegenwart des  $[^{18}\text{F}]\text{Methylfluorids}$  und geringen Mengen  $\text{F}_2$ -Träger liefert  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  (vgl. Schema 14).



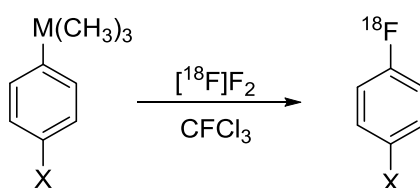
Schema 14: Darstellung von  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ -Gas über elektrische Entladung von  $[^{18}\text{F}]\text{CH}_3$  (nach 88).

In den ersten Versuchen wurden moderate spezifische Aktivitäten von etwa 25 GBq/ $\mu\text{mol}$  erreicht. Im Anschluss an die Entladung wurde 2-Oxoquazepam radiofluoriert.<sup>89</sup> Auch hier kann auf den Zusatz von Träger nach der elektrischen Entladung nicht gänzlich verzichtet werden, sodass die erreichbare molare Aktivität von bis zu 55 GBq/ $\mu\text{mol}$  immer noch mindestens eine Größenordnung unter der für eine störungsfreie Bildgebung notwendigen Werten liegt, die mit n.c.a.  $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$  erreicht werden.<sup>90</sup>

Die außerordentliche Reaktivität des elementaren  $[^{18}\text{F}]\text{Fluors}$  und die damit einhergehende geringe Selektivität der Fluorierungsreaktionen führen weiterhin zu besonderen Anforderungen an die Synthesepaltung. So müssen Markierungsreaktionen dieser Art häufig bei niedriger Temperatur und in gegenüber elementarem Fluor möglichst inerten Lösungsmitteln wie Trichlorfluormethan (Freon-11) und Tetrachlorkohlenstoff stattfinden. Bezüglich der möglichen Nebenreaktionen sind bei

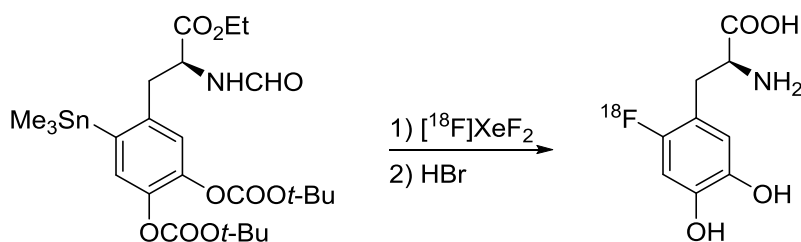
aliphatischen Verbindungen radikalische Seitenkettensubstitutionen oder Polyfluorierungen zu erwarten und besonders bei der elektrophilen aromatischen Substitution ( $S_EAr$ ) besteht die Gefahr einer unerwünschten Isomerenbildung aufgrund der fehlenden Regioselektivität. Da an die Reinheit der Radiopharmaka, insbesondere für den Einsatz am Menschen, höchste Ansprüche gestellt werden, erfordert die Aufarbeitung der entstehenden Produktgemische besonderen Aufwand.

Durch die Verwendung organometallischer Aromaten mit Trimethylzinn-, Trimethylgermanium- oder Trimethylsiliciumfunktionen als Abgangsgruppe kann die Regioselektivität der Markierungsreaktionen entscheidend verbessert werden.<sup>91</sup> Solche Funktionen erhöhen die Elektronendichte am aromatischen  $sp^2$ -Kohlenstoff und aktivieren dieses Zentrum für einen elektrophilen Angriff durch  $[^{18}F]$ Fluor (vgl. Schema 15). Auf diese Weise konnten die entsprechenden  $[^{18}F]$ Fluorarene mit hoher Regioselektivität und mit steigender radiochemischer Ausbeute in der erwarteten Reihenfolge  $Si < Ge < Sn$  hergestellt werden.



Schema 15: Elektrophile aromatische Demetallierungsreaktion mit  $[^{18}F]F_2$  ( $M = Si, Ge, Sn$ ;  $X = OCH_3, CH_3, H, F, Br, CF_3, NO_2$ ).

Angelehnt an diese Arbeiten wird noch heute die ursprünglich von *Navamari* et al. entwickelte und anschließend von *de Vries* et al. adaptierte und automatisierte Synthese des PET-Radiopharmakons L-6- $[^{18}F]$ FDOPA im Routinebetrieb eingesetzt.<sup>92,93</sup> Die Fluordestannylierung hat sich hier als eine effiziente Methode zur regiospezifischen Darstellung von L-6- $[^{18}F]$ FDOPA erwiesen, die dennoch einer anspruchsvollen Reinigung von vielen Nebenprodukten bedarf (vgl. Schema 16).



Schema 16: Regiospezifische elektrophile Darstellung von 6- $[^{18}F]$ Fluor-L-dopa mittels Fluordestannylierung (nach 92).

### 1.2.7 Elektrophile $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzien

Elektrophile Fluorierungsreagenzien haben in der organisch präparativen Synthesechemie bereits eine lange Entwicklungsgeschichte. Anfangs stellte elementares Fluor die einzige Quelle für elektrophile Fluorierungen dar.<sup>94</sup> Aufgrund der schweren Handhabbarkeit, der Toxizität, sowie der begrenzten Selektivität, die mit dem Einsatz von Fluor in der Synthesechemie einhergehen, wurden Alternativen angestrebt. So kann elementares Fluor in ein sekundäres Fluorierungsreagenz mit verminderter Reaktivität überführt werden. Neben den hochreaktiven und im Vergleich zu  $\text{F}_2$  nur geringfügig besser handhabbaren Verbindungen wie Xenondifluorid ( $\text{XeF}_2$ )<sup>95</sup>, Perchlorylfluorid ( $\text{FCIO}_3$ )<sup>96</sup> oder Acetylhypofluorit ( $\text{CH}_3\text{COOF}$ )<sup>97</sup>, die auch in Form der Fluor-18-Analoga<sup>11,24</sup> existieren, gewann eine neue Klasse von elektrophilen Fluorierungsreagenzien an Bedeutung. Es handelt sich dabei um N-fluorierte Stickstoff-Verbindungen mit der allgemeinen Struktur  $\text{R}_2\text{N-F}$  oder  $[\text{R}_3\text{N-F}]^+$ , die im Vergleich zu ihren Vorgängern eine geringere Reaktivität aufweisen, besser handhabbar sind und bis dahin unerreichbare Selektivitäten erreichen.

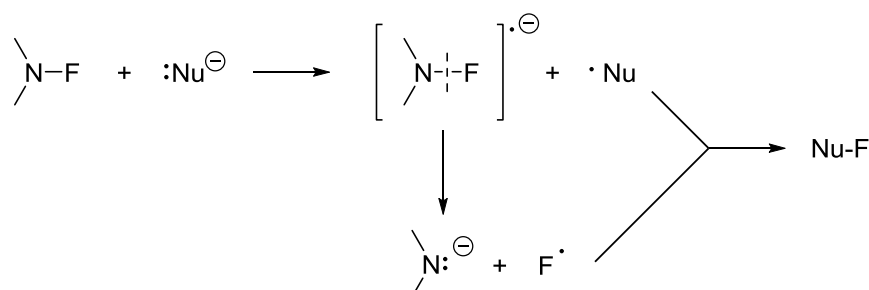
#### **Reaktionsweise von elektrophilen N-Fluoramin-Fluorierungsreagenzien**

Elektrophile Fluorierungsreagenzien reagieren auf eine Weise, die vermuten lässt, dass es sich um eine Übertragung von positivem Fluor handelt. Die Existenz eines positiven Fluoroniumions „ $\text{F}^+$ “ und der Mechanismus, mit dem elektrophile Fluorierungsreagenzien das Fluor übertragen, sind seit langem Gegenstand kontroverser Diskussionen. Die Bildung eines „ $\text{F}^+$ “ ist thermodynamisch benachteiligt. Für die heterolytische Dissoziation ( $\text{F}_2 \rightarrow \text{F}^- + \text{F}^+$ ) beträgt  $\Delta H = +1370 \text{ kJ/mol}$  wohingegen für die homolytische Dissoziation ( $\text{F}_2 \rightarrow \text{F}^\cdot + \text{F}^\cdot$ ) mit  $\Delta H = +159 \text{ kJ/mol}$  deutlich weniger Energie nötig ist.<sup>98,99</sup> Die bei einer Bindungsspaltung entstehenden Spezies sind höchst instabil und lediglich in der Gasphase beobachtet worden.<sup>100</sup> Damit ist eine Bildung von „ $\text{F}^+$ “ in kondensierter Materie während elektrophiler Fluorierungsreaktionen kaum möglich. Auch im Falle des lange bekannten Fluoroniumsalzes  $(\text{H}_7\text{F}_6)\text{SbF}_6$  handelt es sich nicht um eine stabilisierte Form von „ $\text{F}^+$ “, sondern lediglich um das Addukt von  $\text{SbF}_5 \cdot 7 \text{ HF}$ .<sup>101,102</sup> Ähnliches gilt für das Ion  $\text{NF}_4^+$ .

Die Beteiligung an elektrophilen Substitutionsreaktionen kann nicht zwangsläufig ein Indikator für ein positiv polarisiertes Fluoratom sein.<sup>103</sup> In jedem Falle greift das Argument der hohen Elektronegativität des Fluors. Bei elektrophilen Fluorierungs-

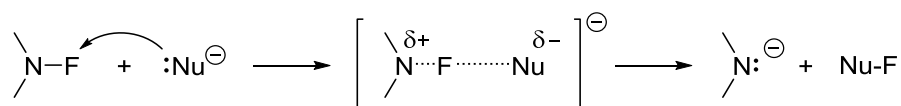
reagenzien übt eine elektronenziehende „Abgangsgruppe“ auf die Bindung zum Fluor einen starken induktiven Effekt aus. Aufgrund der einzigartigen Fähigkeit des Fluors, Elektronenpaare in jeder chemischen Bindung an sich zu ziehen, kann es nicht gelingen, das Fluor auf ein Niveau zu polarisieren, das positiver ist als das Niveau der Funktion, an die es gebunden ist.<sup>103</sup>

Zur Aufklärung des Mechanismus elektrophiler Fluorierungen wurden in der Vergangenheit einige Untersuchungen durchgeführt. Grundsätzlich sind für die Reaktion eines N-F-Reagenzes mit einem Nukleophil zwei Mechanismen vorgeschlagen worden, die sich konzeptionell entweder mit der nukleophilen Substitution am N-F-Reagenz<sup>104</sup> oder mit einem Single-electron-transfer<sup>105,106</sup> (SET) ausgehend vom Nukleophil befassen (vgl. Schema 17).



Schema 17: SET-Mechanismus der elektrophilen Fluorierung mit N-F-Reagenzien.

Beim SET-Mechanismus liefert das Nukleophil zunächst ein Elektron an das elektronendefiziente Fluorierungsreagenz  $\text{R}_2\text{N-F}$ . Es bildet sich ein Radikalanion, das nach homolytischer Spaltung der N-F-Bindung ein Fluorradikal für die Kombination zum Fluorierungsprodukt liefert. Das Studium der Reaktivität von N-Fluorpyridiniumsalzen unterstützt nach *Umemoto et al.* ebenfalls die Theorie des SET-Mechanismus.<sup>107</sup> Er postulierte die Bildung eines Charge-Transfer-Komplexes zwischen elektronenreichen Substraten und dem Fluorierungsreagenz. Aus diesem Komplex heraus folgen der Elektronentransfer und die Übertragung des Fluorradikals (vgl. Schema 18).



Schema 18:  $\text{S}_{\text{N}}2$ -Mechanismus der elektrophilen Fluorierung mit N-F-Reagenzien.

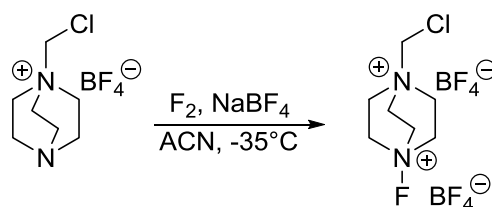
Diese nichtradikalische Variante soll über den nukleophilen Angriff des Substrates am Fluoratom erfolgen und über einen  $\text{S}_{\text{N}}2$ -artigen Übergangszustand zum



Fluorierungsprodukt führen. Abhängig vom Fluorierungsreagenz und vom verwendeten Nukleophil finden sich in der Literatur Beispiele für und gegen jeden dieser postulierten Mechanismen, sodass bis heute keine einheitlich akzeptierte Vorstellung des Ablaufes dieser elektrophilen Fluorierungsreaktionen existiert.<sup>108</sup>

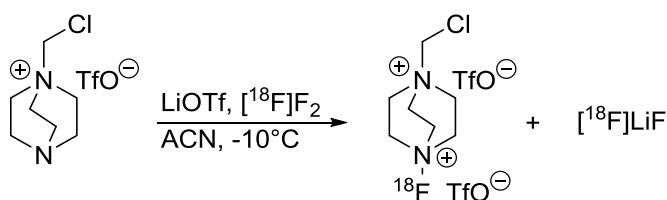
### ***N*-[<sup>18</sup>F]Selectfluor**

Zu dem wohl bekanntesten Fluorierungsreagenzien aus der Klasse der geladenen *N*-Fluoramine zählen das sogenannte Selectfluor® (4-Chlor-1-fluormethyl-1,4-diazoniumbicyclo[2.2.2]oktanbis(tetrafluorborat)) und das entsprechende Bis-(triflat).<sup>94,109,110</sup>



Schema 19: Darstellung von Selectfluor® über direkte Fluorierung (nach 110).

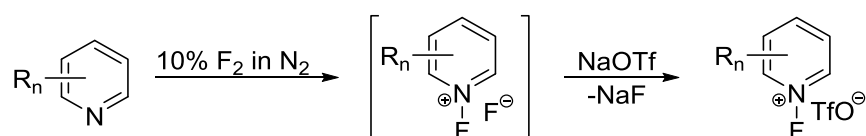
Verglichen mit anderen Fluorierungsreagenzien wie Perchlorylfluorit liefern sie unter milderen Bedingungen und teils nach kürzerer Reaktionszeit die entsprechend fluorierten Produkte mit hohen Ausbeuten. Die physikochemischen Eigenschaften und das ausgezeichnete Fluorierungsverhalten dieser hoch potenten Reagenzien ermöglichen die regioselektive Einführung von Fluor in Steroide und in eine Vielzahl an aromatischen und C-H-aziden Verbindungen.<sup>111,112</sup> Die „post-Target“ Synthese von *Bergman* und *Solin* zur Darstellung von [<sup>18</sup>F]F<sub>2</sub> mit hoher spezifischen Aktivität ausgehend von n.c.a. [<sup>18</sup>F]Fluorid ist auch Basis für die 2010 von *Teare et al.* publizierte Darstellung des radioaktiven Vertreters von Selectfluor®bis(triflat) (vgl. Schema 20).<sup>113</sup> Dieses Reagenz konnte unter anderem erfolgreich zur Ag(I)-vermittelten <sup>18</sup>F-Fluorierung von elektronenreichen Arylstannanen eingesetzt werden.<sup>114</sup>



Schema 20: Radiofluorierung von [<sup>18</sup>F]Selectfluorbis(triflat) (nach 113).

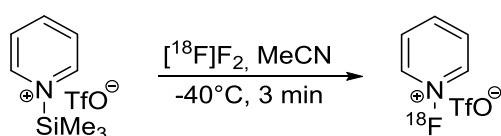
### ***N*-[<sup>18</sup>F]Fluorpyridiniumtriflat**

*N*-Fluorpyridiniumsalze sind strukturell die einfachsten Vertreter der Fluorierungsreagenzien aus der Gruppe der ionischen *N*-Fluoramine. Die ersten Untersuchungen an dieser Verbindungsklasse lieferten einen instabilen Pyridin-Fluor-Komplex (*N*-Fluorpyridiniumfluorid) durch Reaktion von elementarem Fluor mit Pyridin in CFCl<sub>3</sub> bei -80 °C.<sup>115</sup> Der Austausch des Fluorids gegen ein weniger nukleophiles Anion führte zu den ersten isolierbaren *N*-Fluorpyridiniumsalzen, die aufgrund ihrer guten Aktivität und Handhabbarkeit auch kommerzielle Anwendung fanden.<sup>116</sup> Die größte Reaktivität aller Pyridiniumsalze weisen die *N*-Fluorpyridiniumtriflate auf. Sie werden unter Einwirkung von elementarem Fluor auf Pyridin in Anwesenheit stöchiometrischer Mengen Natriumtrifluormethansulfonat gebildet (vgl. Schema 21).<sup>111</sup>



Schema 21: Darstellung von *N*-Fluorpyridiniumtriflaten (mit  $R_n = H, 2\text{-Me}, 4\text{-NO}_2, 4\text{-CN}$  oder  $3,5\text{-(CF}_3)_2$ ; nach 111 und 120).

Bei den beschriebenen Derivaten handelt es sich um stabile kristalline Substanzen, die nicht mit Glas reagieren und in organischen Lösungsmitteln löslich sind.<sup>111</sup> Der radioaktiv markierte Vertreter, *N*-[<sup>18</sup>F]Fluorpyridiniumtriflat, wurde aus *N*-Trimethylsilylpyridiniumtriflat und [<sup>18</sup>F]F<sub>2</sub> bei -40 °C in Acetonitril hergestellt (vgl. Schema 22) und erfolgreich bei der Analogmarkierung von Estron, einem wichtigen Sexualhormon aus der Stoffklasse der Steroide, eingesetzt.<sup>117</sup>

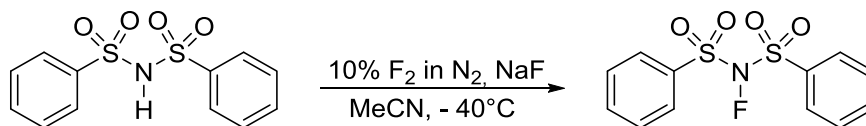


Schema 22: Darstellung von *N*-[<sup>18</sup>F]Fluorpyridiniumtriflat (nach 117).

### ***N*-[<sup>18</sup>F]Fluorbis(phenylsulfonyl)imid**

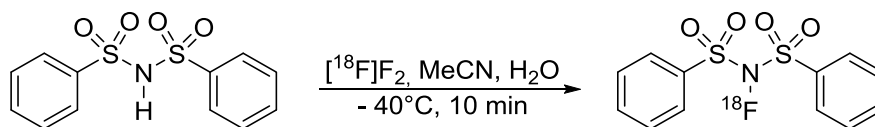
1991 stellten *Differding* et al. erstmals eine Methode zur Darstellung von *N*-Fluorbis(phenylsulfonyl)imid (NFSi) aus Diphenylsulfonimid (NHSi) und elementarem Fluor vor (vgl. Schema 23).<sup>118</sup> NFSi ist ein farblos kristallines Pulver, nicht hygroskopisch, gut lagerbar und kommerziell erhältlich.<sup>111,120</sup> Dieses Fluorierungsreagenz bietet vielfältige Anwendungsmöglichkeiten. Angefangen bei

der Fluorierung von Carbanionen, Enolaten und Enolestern, reichen sie bis hin zur direkten asymmetrischen  $\alpha$ -Fluorierung von Aldehyden<sup>119</sup>. Zahlreiche monosubstituierte elektronenreiche Aromaten wurden auf diese Weise ebenfalls effektiv fluoriert.



Schema 23: Darstellung von *N*-Fluorbis(phenylsulfonyl)imid (nach 120).

Das radioaktive Pendant zu dieser Verbindung, *N*-[<sup>18</sup>F]Fluorbis(phenylsulfonyl)imid, wurde durch Umsetzung von [<sup>18</sup>F]F<sub>2</sub> mit dem Natriumsalz des Sulfonimids erhalten (vgl. Schema 7).<sup>121</sup> Diese Reaktion wurde in einem Lösungsmittelgemisch aus 90 % Acetonitril und 10 % Wasser durchgeführt, was die Toleranz gegenüber wässrigen Bedingungen beweist. Dennoch wirkt sich die Verwendung wasserfreier Lösungsmittel reaktivitätssteigernd auf diese Fluorierungsreaktionen aus.

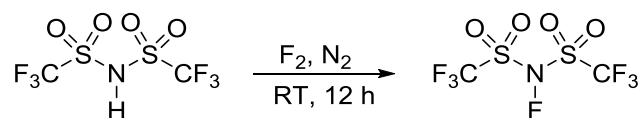


Schema 24: Darstellung von *N*-[<sup>18</sup>F]Fluorbis(phenylsulfonyl)imid (nach 121).

Die ersten mit diesem Reagenz dargestellten Radiofluorierungsprodukte, wie selektiv  $\alpha$ -fluorierte Ketone oder allylische Fluoride, wurden aus Allylsilanen oder Silylenol-ethern erhalten.<sup>121</sup> Die Reaktionsbedingungen können in der Regel moderat gewählt werden, weshalb sie auf radiochemische Anwendungen mit Produktspektren von pharmazeutischem Interesse übertragbar sind.

### ***N*-[<sup>18</sup>F]Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid**

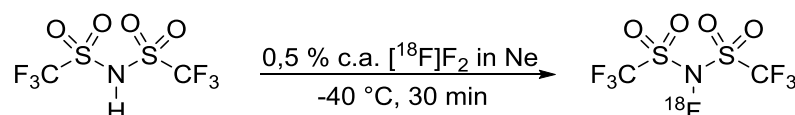
Unter den *N*-Fluorbis(sulfonyl)aminen aus der Klasse der ungeladenen Fluorierungsreagenzien ist *N*-Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid (Tf<sub>2</sub>N-F) der reaktivste Vertreter hinsichtlich des elektrophilen Transfers von Fluor. 1987 erstmals hergestellt durch Singh et al.<sup>122</sup> erwies sich das elektrophile Fluorierungsreagenz in zahlreichen Applikationen als potentes und nützliches Werkzeug in der organisch präparativen Synthesechemie.<sup>112,123</sup> Die Darstellung erfolgt aus dem Bis(trifluormethylsulfonyl)imid<sup>124</sup> (Tf<sub>2</sub>N-H) in Anwesenheit von elementarem Fluor ohne Lösungsmittel (vgl. Schema 25).<sup>125</sup>



Schema 25: Darstellung von *N*-Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid (nach 125).

Wenngleich das entstandene Fluorierungsreagenz  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  eine sehr gute Langzeitstabilität aufweist, sollte es in einem perfluorierten Kunststoffgefäß, idealerweise Teflon<sup>®</sup>, gelagert werden. Belässt man das Reagenz lange unter Einfluss von Luft, so bilden sich mit der Zeit Hydrolyseprodukte. Als Resultat der Bildung kleiner Mengen an HF ätzt das Produkt dann auch Glas an.

Im Vergleich zu dem oben bereits erwähnten *N*-Fluorbis(phenylsulfonyl)imid wirkt sich ein Austausch der Phenyl-Gruppen gegen Trifluormethylfunktionen reaktivitätssteigernd auf das Reagenz aus. Außerdem wird das nach elektrophiler Fluorierung zurückbleibende Anion mit elektronenziehenden Funktionen deutlich besser stabilisiert, was ebenfalls eine Steigerung der Reaktivität nach sich zieht.<sup>126</sup> IR-Daten bestätigen, dass das Anion  $\text{Tf}_2\text{N}^-$  die negative Ladung deutlich besser delokalisieren und stabilisieren kann als beispielsweise Triflat.<sup>127</sup> Mit diesem Fluorierungsreagenz konnten fluorierte Derivate des Zytostatikums Camptothecin, zahlreiche 1,3-Dicarbonylverbindungen und pharmakologisch aktive Substanzen wie Antikoagulantien in Ausbeuten von über 80 % elektrophil fluoriert werden.<sup>123,128</sup>



Schema 26: Darstellung von *N*-[<sup>18</sup>F]Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid (nach 108).

Über die direkte Fluorierung mit  $[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}_2$  wurde auch das radioaktive Pendant *N*-[<sup>18</sup>F]Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid ( $\text{Tf}_2\text{N-}[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}$ ) hergestellt (vgl. Schema 26).<sup>108,129</sup> Dazu wurde mit Neon verdünntes c.a.  $[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}_2$  bei -20 °C durch eine Lösung aus Bis(trifluormethylsulfonyl)imid in Dichlormethan geleitet. Anschließend wurde die Lösung durch Spülen mit  $\text{N}_2$  von  $[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}_2$ -Rückständen befreit. Die Durchführung eines direkten Nachweises des <sup>18</sup>F-funktionalisierten Fluorierungsreagenzes wurde nicht untersucht. Stattdessen wurde ein elektronenreicher Aromat als Monitormolekül für die indirekte Identifizierung von  $\text{Tf}_2\text{N-}[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}$  verwendet. So wurde nach der direkten Fluorierung das durch die Methoxyfunktion für einen elektrophilen Angriff aktivierte Anisol hinzugegeben. Die entsprechend fluorierten Produkte 2- und 4-[<sup>18</sup>F]Fluoranol wurden mittels Radio-HPLC und einem schwachen Signal-Rausch-Verhältnis

identifiziert. Es ist nicht auszuschließen, dass nach der direkten Fluorierung in der Lösung verbliebenes  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  ebenfalls zur Bildung der  $^{18}\text{F}$ -markierten Anisolderivate beigetragen hat. Weitere Anwendungen dieses  $^{18}\text{F}$ -fluorierten Fluorierungsreagenzes sind bislang nicht bekannt.

Aufgrund der vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten solcher effektiven Fluorierungsreagenzien ist aus radiochemischer Sicht deren trägerarme Darstellung von großem Interesse, um die Lücke der elektrophilen n.c.a. Direktfluorierungen zu schließen. Auf diese Weise ließen sich dann elektronenreiche Aromaten möglicherweise ohne eine anspruchsvolle Einführung entsprechender Abgangsgruppen  $^{18}\text{F}$ -fluorieren, was mit einem erheblich geringeren präparativen Aufwand für die Darstellung der Markierungsvorläufer komplexer Verbindungen verbunden wäre.

### 1.3 Bedeutung des Stickstoffmonoxids als endogener Botenstoff

Schon seit Ende des 19. Jahrhunderts werden organische Nitrate wie Glyceroltrinitrat oder Substanzen wie Molsidomin aufgrund ihrer vasodilatorischen Wirkung zur standardmäßigen Behandlung kardiovaskulärer Erkrankungen im großen Umfang eingesetzt.<sup>130,131</sup> Die Dilatation insbesondere der venösen Blutgefäße nach Applikation dieser Pharmaka bewirkt eine Entlastung des insuffizienten Herzens durch Senkung des Sauerstoffbedarfs und gleichzeitiger Erhöhung der Sauerstoffzufuhr. Der molekulare Wirkmechanismus dieser Arzneimittel blieb jedoch lange unbekannt, bis in den 80er Jahren *F. Furchgott*, *L. J. Ignarro* und *F. Murad*<sup>132</sup> die molekulare Identität des endothelexprimierten Relaxationsfaktors (endothelium derived relaxing factor, EDRF) entschlüsselten und damit eine Revolution auf dem Gebiet der biologischen Signalverarbeitung einleiteten. Für die Entdeckung, dass das in den Endothelzellen der Gefäße freigesetzte NO die glatten Muskelzellen relaxiert erhielten sie 1998 den Nobelpreis für Medizin. Im Licht dieser Erkenntnis wurde auch die Wirkweise der Nitrovasodilatoren bzw. NO-Donatoren verstanden.

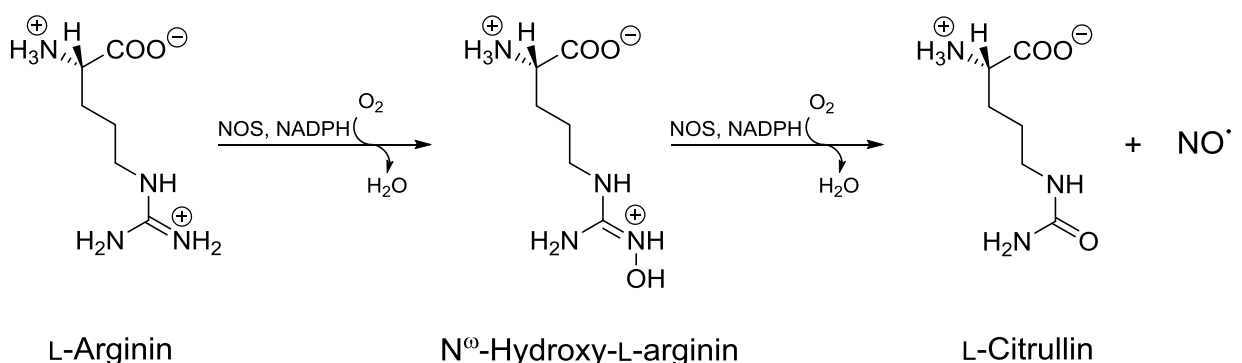
Verglichen mit komplexen körpereigenen Botenstoffen wie Proteinen und Hormonen ist NO verhältnismäßig klein und wegen seiner physikochemischen Eigenschaften hochreaktiv, was den direkten Nachweis lange schwierig machte. Seine Biochemie wird maßgeblich durch sein ungepaartes Elektron beeinflusst, wodurch es im

Gewebe eine nur sehr kurze Lebensdauer von etwa einer Sekunde hat.<sup>133</sup> Aufgrund seiner Größe und der elektrischen Neutralität kann es in dieser Zeit dennoch eine verhältnismäßig große Wegstrecke zurücklegen. Berechnungen zufolge kann NO im Gehirn in einem Radius von 300 µm auf ca. zwei Millionen Synapsen wirken. Somit kann es an einer Vielzahl physiologischer und pathophysiologischer Prozesse beteiligt sein.<sup>133</sup>

Die Inaktivierung des NO geschieht im wässrigen Milieu mit dort gelöstem Sauerstoff wobei Nitrit gebildet wird.<sup>134</sup> Andererseits erzeugt NO mit dem durch Einelektronreduktion gebildetem Superoxidanion  $O_2^-$  auch das Peroxinitrit  $OONO^-$ , welches vielfach reaktiver ist als NO selbst.<sup>133</sup> Das auf diese Weise gebildete Toxin ist in der Lage, Peptide zu nitrieren und damit Konformations- und Funktionsänderungen an biologisch relevanten Proteinen oder Enzymen auszulösen.<sup>135,136</sup>

### 1.3.1 Funktion und Struktur der NO-Synthase

Ausgehend von L-Arginin und Sauerstoff wird NO endogen, also vom Körper selbst, durch verschiedene NO-Synthasen und Kofaktoren enzymatisch gebildet. Dabei wird L-Arginin nach einer komplexen 5-Elektronen-Oxidation zunächst intermediär zu  $N^\omega$ -Hydroxy-L-arginin umgesetzt und anschließend unter Bildung von L-Citrullin am terminalen Guanidinstickstoff zu NO oxidiert (vgl. Schema 27).<sup>136</sup> Der zweite Reaktionsschritt ist nicht NOS-spezifisch und kann auch in Anwesenheit von Superoxidanionen durch Cytochrom-P450 katalysiert werden.<sup>137</sup>



Schema 27: Die NO-Synthase-Reaktion (nach 136).

Es werden abhängig vom Zelltyp drei Isoformen der NO-Synthase unterschieden, die sich in Struktur und Funktion sehr ähnlich sind, deren Aktivität jedoch nicht einheitlich reguliert wird. Anders als die endotheliale (eNOS) und die neuronale NOS (nNOS), welche in den Zellen ständig exprimiert werden und durch Regulation der Calcium-

Konzentration über das regulatorische Protein Calmodulin (CAL) gesteuert werden, wird die induzierbare NO-Synthase (iNOS) unabhängig von der intrazellulären Calcium-Konzentration durch pro-inflammatorische Mediatoren exprimiert.<sup>133</sup> Solche Entzündungsmediatoren sind zum Beispiel Tumornekrosefaktor- $\alpha$ , Interleukin-1 sowie Bakterienendotoxine und Zytokine.<sup>138</sup>

Einen detaillierten Überblick zur Enzymologie der NO-Synthasen liefert der Artikel von Mayer et al..<sup>136</sup> Alle drei Isoformen sind lediglich als Dimere aktiv und weisen eine hohe Sequenzhomologie und damit eine hohe Strukturähnlichkeit auf (vgl. Abbildung 5).

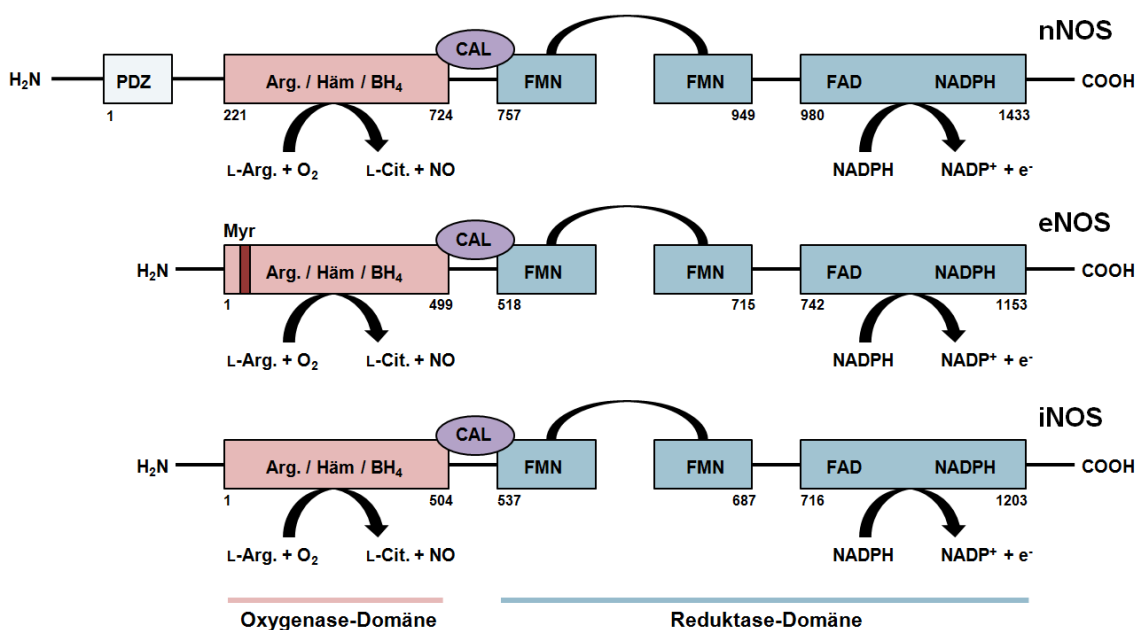


Abbildung 5: Strukturvergleich der drei NOS-Isoformen (modifiziert nach 161).

Jedes Monomer besteht aus einer C-terminalen Reduktase- und einer N-terminalen Oxidase-Domäne mit Bindungsstellen für die verschiedenen wasserstoffübertragenden Kofaktoren Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADHP), 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>), Flavinmononukleotid (FMN) und Flavinadenindinukleotid (FAD).<sup>139</sup> Das aktive Dimer wird stabilisiert durch die Koordination eines Zinkatoms an die Kontaktfläche der Oxidase-Domänen (vgl. Abbildung 6). Das reaktive Zentrum befindet sich in der Oxidase-Domäne wo die Reduktion von BH<sub>4</sub> und des Häm-Eisens die Aktivierung von Sauerstoff und damit die Oxidation von Arginin unter der Bildung von NO ermöglicht.<sup>138</sup>

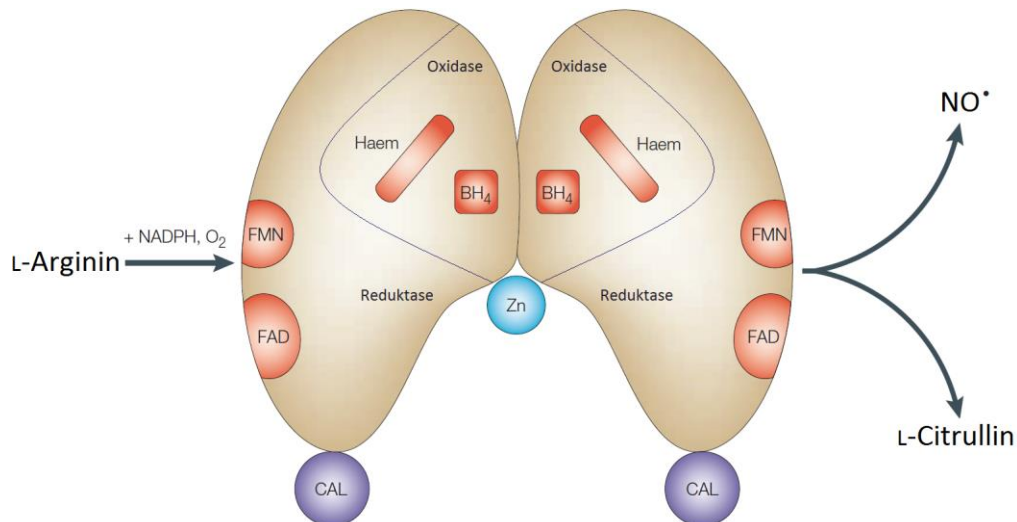


Abbildung 6: Enzymatische NO-Produktion aus L-Arginin, Sauerstoff und NADPH an einem NOS-Dimer (FMN: Flavinmononukleotid; FAD: Flavinadenindinukleotid; CAL: Calmodulin; BH<sub>4</sub>: Tetrahydrobiopterin; Zn: Zink) (modifiziert nach 135).

### 1.3.2 Wirkmechanismus von NO

Das auf diese Weise gebildete NO kann im weiteren Verlauf seines Wirkmechanismus mit Metallionen in Enzymen interagieren.<sup>140</sup> Im Falle der löslichen Guanylylcyclase (GC) führt die Bindung des NO an das Häm-Eisenion im Zentrum der GC zu einer Konformationsänderung des Enzyms und bewirkt damit dessen Aktivierung. Die GC steuert im weiteren Verlauf die Produktion des sekundären Botenstoffes cyclisches Guanosin-3',5'-monophosphat (cGMP) aus Guanosin-5'-triphosphat (GTP), was für die Signaltransduktion in Zellen verantwortlich ist.<sup>141</sup> Je nach Enzymisoform nimmt der Wirkmechanismus des damit katalytisch produzierten NO einen spezifischen Verlauf.

### 1.3.3 NO als Vasodilator im kardiovaskulären System

Die Endothelzellen produzieren infolge veränderter Scherkräfte des fließenden Blutes, oder durch Neurotransmitter wie Acetylcholin, vermehrt NO, welches in die glatten Muskelzellen diffundiert und dort die lösliche Guanylylcyclase aktiviert. Die damit einhergehende Steigerung der cGMP-Bildung hat eine Muskelrelaxation und damit eine Gefäßerweiterung zur Folge.<sup>142</sup> Im menschlichen Körper ist NO durch seinen Einfluss auf den Gefäßtonus nicht nur ein wichtiger Mediator für die Blutdruckregulation und Organdurchblutung, es spielt auch eine wichtige Rolle in der Hemmung der Thrombozytenaggregation.<sup>142</sup> Das im Gefäßlumen exprimierte NO



aktiviert die GC in Thrombozyten und hemmt auf diese Weise deren Aggregation und Adhäsion an die Gefäßwand, wodurch die ungewollte unkontrollierte Blutgerinnung in den Blutgefäßen gehemmt wird. Daher besitzt NO eine antithrombotische und antiarteriosklerotische Wirkung, was insbesondere bei der Verhinderung von Gefäßschäden und beim Schutz der Herzkranzgefäße vor Durchblutungsstörungen eine vitale Rolle spielt.

#### **1.3.4 NO als Neurotransmitter im zentralen und peripheren Nervensystem**

Das Stickstoffmonoxid aus der Aktivität der neuronalen NO-Synthase wird sowohl in den Nervenzellen des peripheren als auch in denen des zentralen Nervensystems gebildet.<sup>143</sup> Ein wichtiger Neurotransmitter im zentralen Nervensystem ist L-Glutamat, welches von der Nervenendigung einer präsynaptischen Nervenzelle freigesetzt wird und an den postsynaptischen NMDA-Rezeptor (N-Methyl-D-aspartat-Rezeptor) bindet. Dies hat einen intrazellulären Anstieg der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration zur Folge, wodurch die nNOS zur Bildung von NO stimuliert wird. Auf diese Weise schüttet das Neuron vermehrt NO aus, welches als retrograder Botenstoff in das präsynaptische Neuron zurückdiffundieren kann. Dort löst es eine Aktivierung der löslichen Guanylylcyclase aus, welche die Bildung von cGMP aus GTP katalysiert. Das cGMP kann nun als sekundärer Botenstoff eine Verstärkung oder eine Hemmung der primären Transmitterfreisetzung bewirken.

Solche Anpassungen der Botenstoffliberation und der neuronalen Erregbarkeit in Abhängigkeit von der Aktivierung der nNOS stellen einen der zellulären Mechanismen des Lernens dar.<sup>142,144,145</sup> Auch im Zusammenhang mit der Schlafregulation wurden Studien mit NOS-Inhibitoren durchgeführt.<sup>146</sup> Die neuronale NOS scheint in komplexer Weise an vielen weiteren kognitiven Prozessen beteiligt zu sein. So zeigen NOS-inhibierte Mäuse in Übereinstimmung mit der normalerweise hohen nNOS Expression im Kleinhirn Auffälligkeiten bezüglich Gleichgewicht und Koordination bei Dunkelheit.<sup>147</sup>

Die Beteiligung der NO-Synthase an neurodegenerativen Erkrankungen leitet sich von der Fähigkeit ab, Peptide durch „nitrosativen“ Stress zu beeinträchtigen. In Zellen mit einem defizitären Gehalt an zur Verfügung stehenden NOS-Substraten oder Ko-Faktoren, wie  $\text{BH}_4$  oder L-Arginin, kommt es zu einer ineffizienten enzymatischen Produktion von NO. Die NO-Synthase reduziert vermehrt  $\text{O}_2$  zu  $\text{O}_2^-$  und fördert somit die Bildung von freien Radikalen und Peroxinitrit.<sup>148</sup> Primär wird

durch die Bildung von Peroxinitrit auch die Bioverfügbarkeit von NO herabsetzt.<sup>149</sup> Die Reaktion dieser Oxidationsmittel beispielsweise mit der Thiolfunktion protein- bzw. enzymgebundener Cysteinfragmente führt wie oben bereits erwähnt zu einer Konformationsänderung und damit zu einer Beeinträchtigung der Enzymfunktion.<sup>150</sup> Solche S-Nitrosylierungen verursachen nach der Aktivierung durch die nNOS auch neuronale Schäden, sodass die Dysregulation der NO-Synthase auch ursächlich an Entstehung und Fortschreiten der Alzheimer Krankheit mitbeteiligt ist.<sup>151</sup>

Die neuronale NOS wurde auch im peripheren Nervensystem, insbesondere in glattmuskulären Organen des Gastrointestinaltraktes nachgewiesen.<sup>152</sup> Das dort freigesetzte NO spielt bei der peristaltischen Bewegung der Speiseröhre wie auch bei der reflektorischen Erweiterung des Magens eine essentielle Rolle und ist ebenso an der Funktion von Schließmuskel und Harnleiter beteiligt.<sup>135</sup> Die Wirkungsweise ist vergleichbar mit der von eNOS. Das enzymatisch produzierte NO diffundiert in die benachbarten glatten Muskelzellen und führt dort, durch die Aktivierung der Guanylylcyclase und die anschließende Freisetzung von cGMP, zu deren Relaxation.

### **1.3.5 NO als Zytostatikum im Immunsystem**

Anders als die eNOS und die nNOS wird die iNOS unabhängig von intrazellulärem Calcium durch Entzündungsmediatoren wie Bakterienendotoxine und Zytokine induziert und produziert bei Angriffen von Pathogenen schnell bis zu  $\mu\text{M}$  Mengen an NO.<sup>133,153</sup> Das durch die iNOS zur unspezifischen Immunabwehr gebildete NO hat zytotoxische Wirkung und ist damit befähigt, protektiv Bakterien wie auch Krebszellen zu schädigen oder zu zerstören.<sup>154</sup> Es wirkt jedoch auch schädigend auf körpereigene gesunde Zellen, indem es durch irreversible Komplexbildung direkt an Enzyme bindet und damit für die Zelle lebenswichtige Stoffwechselfunktionen hemmt. Beim Einwirken auf die Zellmembran kann es membranintegrale Proteine oder die Lipidschicht der Zellmembran durch Lipidperoxidation direkt schädigen. Vor allem aber nach Bildung von Peroxinitrit, das noch aggressiver ist als das NO selbst, kann die DNA im Zellkern beeinträchtigt werden und so der programmierte Zelltod (Apoptose) induziert werden.<sup>133</sup>

Diese Überproduktion von NO kann darüber hinaus Entzündungen provozieren wie im Falle von rheumatoider Arthritis.<sup>155</sup> Die bei solchen Entzündungen entstehenden Gewebeschädigungen werden ebenfalls durch die NO-Produktion der iNOS mitverursacht.<sup>135</sup> Bei bestimmten Formen des Diabetes Mellitus konnte eine

Fehlregulation der iNOS als Auslöser für die Zerstörung pankreatischer  $\beta$ -Zellen nachgewiesen werden.<sup>156</sup>

Studien haben außerdem gezeigt, dass die Überproduktion von NO durch die iNOS auch an einer Vielzahl akuter und chronischer entzündlicher Krankheiten beteiligt ist wie der Sepsis oder der neurodegenerativen Parkinson Krankheit.<sup>157,158</sup> Eine erhöhte NO-Bildungsrate konnte auch bei der Multiplen Sklerose und lokal in vielen malignen Tumoren gefunden werden.<sup>159,160</sup>

Weiterhin wird durch eine NOS-Dysfunktion mitverursachte Einwirkung von oxidativem Stress auf Mitochondrien mit einer Vielzahl neurodegenerativer Erkrankungen wie der Alzheimer-, Parkinson- und der Huntington-Krankheit in Zusammenhang gebracht.<sup>161</sup> Die Forschungsarbeit vieler Arbeitsgruppen befasst sich daher mit der Herstellung geeigneter und hoch selektiver iNOS Inhibitoren zur gezielten therapeutischen Regulation der NO-Ausschüttung, um so wirkungsvolle Therapien für neurodegenerative und entzündliche Erkrankungen zu ermöglichen.

## 1.4 NOS-Inhibitoren

Die Entdeckung der vielfältigen physiologischen und pathophysiologischen Wirkungen des NO als Hormon, Neurotransmitter und als Zytostatikum machen es heute zu einem wichtigen Zielobjekt bei der Entwicklung von Pharmaka zur Therapie von kardiovaskulären, neuronalen oder inflammatorischen und infektiösen Erkrankungen.<sup>138</sup> Eine Überfunktion der induzierbaren oder der neuronalen NOS und die daraus resultierenden neurologischen Schäden, verursacht durch nitrosativen und oxidativen Stress, können gegebenenfalls durch eine gezielte Enzyminhibition deutlich gemildert werden. Um eine Auswirkung der NOS-Hemmung auf das kardiovaskuläre System zu vermeiden, ist die Entwicklung möglichst isoform-selektiver Inhibitoren für die iNOS und die nNOS von großer Bedeutung.<sup>162</sup> Aufgrund der geringen strukturellen Unterschiede der drei Isoformen (vgl. Kapitel 1.3.2) ist deren selektive Inhibition mit großen Herausforderungen verbunden. Dennoch bieten sich mehrere Ansatzmöglichkeiten.

Alle NO-Synthasen katalysieren die Produktion von NO aus L-Arginin unter Sauerstoff- und NADPH-Verbrauch, sodass der Einsatz von Argininanaloga eine

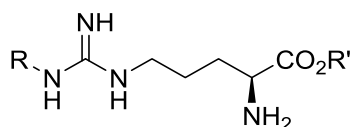
erste mögliche Strategie für die Inhibition sein kann.<sup>163</sup> Außerdem wird der gleiche Kofaktor BH<sub>4</sub> benötigt, weswegen auch die Hemmung der BH<sub>4</sub>-Bindungsstelle zum Erfolg führen kann.<sup>164</sup> Auch andere Wege wären denkbar und sind in Ansätzen auch untersucht worden, wie zum Beispiel die transkriptionelle Regulation der iNOS-Biosynthese.<sup>165</sup>

Die zur NO-Synthese benötigten Kofaktoren sind jedoch ebenfalls an anderen enzymatisch katalysierten Stoffwechselprozessen beteiligt, sodass ein Eingreifen durch eine auf die NOS abgezielte Inhibition zu unspezifischen und unbeabsichtigten Wechselwirkungen in anderen Bereichen des Körpers führen kann. Der Einsatz solcher Substanzen als Therapeutika ist vor diesem Hintergrund wegen der Gefahr unerwünschter pharmakotoxischer Nebenwirkungen keine Option.

Daher ist der Ansatz, Substratantagonisten wie Arginin- und Guanidin-Analoga als Enzyminhibitoren einzusetzen, eher erfolgsversprechend. Sie besitzen *in vivo* den Vorteil der höheren NOS-Spezifität und damit ein geeignetes Potential für positive therapeutische Effekte durch gezielte Hemmung der Überproduktion von NO oder der Reduktion von O<sub>2</sub> zu O<sub>2</sub><sup>-</sup>.

Im Bereich der Arzneistoffentwicklung sind hinsichtlich des Wirkstoffdesigns eines isoformselektiven NOS-Inhibitors unterschiedliche Ansätze denkbar. Da alle Isoformen der menschlichen NO-Synthase isoliert und charakterisiert werden konnten, bietet ein strukturbasiertes Verfahren eine erste Möglichkeit verschiedene Argininderivate als kompetitive Inhibitoren auf ihre Struktur-Wirkungs-Beziehung hin zu untersuchen.

Zu der ersten Generation der Arginin-basierten Inhibitoren gehören Verbindungen wie N<sup>ω</sup>-Methyl-L-arginin (L-NMA), N<sup>ω</sup>-Nitro-L-arginin (L-NNA) und N<sup>ω</sup>-Nitro-L-arginin-methylester (L-NAME) (vgl. Abbildung 7). Ersteres wurde bereits als nNOS-Inhibitor zur Linderung des Migränekopfschmerzes in klinischen Studien am Menschen eingesetzt.<sup>166</sup> Die Wirkung beruht auf der reversiblen kompetitiven Hemmung des Enzyms, wobei das Analogon in Konkurrenz zum Substrat steht.<sup>167</sup> Diese Inhibitoren sind kommerziell erhältlich, chemisch stabil, wasserlöslich und von geringer Toxizität und werden deshalb häufig für *in vivo* und *in vitro* Assays verwendet.<sup>138</sup> Sie sind zwar einigermaßen potent, jedoch verglichen mit modernen Verbindungen wenig isoformselektiv.<sup>168</sup>



R: Me, R': H N<sup>ω</sup>-Methyl-L-arginin (L-NMA)

R: NO<sub>2</sub>, R': H N<sup>ω</sup>-Nitro-L-arginin (L-NNA)

R: NO<sub>2</sub>, R': Me N<sup>ω</sup>-Nitro-L-argininmethylester (L-NAME)

Abbildung 7: Argininanaloge NOS-Inhibitoren.

In die Gruppe der substratbasierten Inhibitoren kann auch das auf der Aminosäure L-Lysin basierende Iminoethyl-L-lysin (L-NIL) eingeordnet werden. Es wurde mit einem IC<sub>50</sub>-Wert im submikromolaren Bereich und einer gegenüber der iNOS um das 28-fach erhöhten Selektivität als potenter und selektiver Inhibitor der induzierbaren Enzymisoform charakterisiert.<sup>169</sup> Neben den bisher erwähnten Argininanaloga konnten mit diesem Inhibitor in Tierversuchen positive therapeutische Effekte bei der Behandlung von Adjuvans-induzierter Arthritis und Leishmaniose erzielt werden.<sup>170,171</sup>

Zur genaueren Untersuchung der sterischen und elektronischen Anforderungen der Arginin-Bindungsstelle in der iNOS wurden fluorierte Derivate dieser Verbindung synthetisiert.<sup>172</sup> Die Einführung eines Fluoratoms in die C-4-Position lieferte einen ähnlich potenten, aber gegenüber der nNOS und der eNOS nur geringfügig selektiven Inhibitor. Außerdem nimmt diese Modifizierung von L-NIL nur geringen Einfluss auf die intramolekulare Aminosäurefunktion in C-2 und das terminale Amin in C-6, wohingegen die Einführung in C-5 die Basizität der terminalen Amidfunktion reduzieren kann.

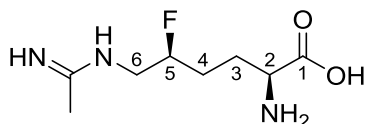


Abbildung 8: 5(S)-Fluor-N6-iminoethyl-L-lysin.

Aus diesem Grund wurde mit dem Ziel der Optimierung des Bindungsprofils aus kommerziell erhältlichem 5-Fluorlysin die Verbindung 5-Fluor-N6-iminoethyl-L-lysin (5-Fluor-L-NIL) hergestellt, isoliert und bezüglich seiner Selektivität und Potenz beurteilt (vgl. Tabelle 4).<sup>173,174</sup> Im Vergleich zu L-NIL sind die Selektivitäten von 5-Fluor-L-NIL sehr ähnlich, sodass nach Isolierung aller Stereoisomeren auch eine Beurteilung der diastereomeren Verbindungen durchgeführt wurde. Mit einer

mittleren inhibitorischen Konzentration von 2,4  $\mu\text{M}$  gegenüber der iNOS konnte die Isoform-Selektivität und auch die Potenz durch Einführung des Fluoratoms leicht verbessert werden, sodass das 5(S)-Fluor-N<sup>6</sup>-iminoethyl-L-lysin (5(S)-Fluor-L-NIL) bezüglich seines Bindungsprofils dem häufig angewendeten L-NIL als iNOS-Inhibitor vorzuziehen ist.

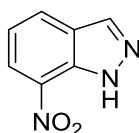
*Tabelle 4: IC<sub>50</sub>-Werte und Enzymselektivitäten verschiedener NIL-Derivate als NOS-Inhibitoren (nach 173).*

Inhibitor	IC <sub>50</sub> -Werte [ $\mu\text{M}$ ]			Selektivität	
	nNOS	eNOS	iNOS	iNOS / eNOS	iNOS / nNOS
<b>L-NIL</b>	4,9	138	35	28	7
<b>5-Fluor-L-NIL</b>	7,8	182	70	23	9
<b>5(S)-Fluor-L-NIL</b>	2,4	81	21	34	9

Inzwischen sind eine Vielzahl weiterer Verbindungen synthetisiert und auf ihr Bindungsprofil und biochemische Aktivität hin untersucht worden.

#### 1.4.1 nNOS-selektive Inhibitoren

Einer der bestuntersuchten und extensiv genutzten nNOS-Inhibitoren ist 7-Nitroindazol. Dieser Ligand unterdrückt die Schmerzwahrnehmung und wirkt protektiv auf experimentell induzierte Schlaganfälle.<sup>175</sup> Er zeigt bei *in vitro* Versuchen eine ähnliche Wirksamkeit wie die Argininanaloge, ist jedoch *in vivo* möglicherweise aufgrund zellabhängiger Metabolisierungsunterschiede und gewebsabhängiger Differenzen der Aufnahmegeschwindigkeit erheblich selektiver.<sup>176</sup>



*Abbildung 9: nNOS-Inhibitor 7-Nitroindazol.*

Ursprünglich aus der Gruppe der peptidbasierten Inhibitoren stammend, zählen die Aminopyridine inzwischen zu den effektivsten nNOS-Inhibitoren. Deren Entwicklung und die daraus hervorgegangenen Verbindungen mit detaillierter Beschreibung der Enzym-Inhibitor-Wechselwirkungen wurden 2009 von *R. B. Silverman* publiziert.<sup>177</sup> Im Zusammenhang mit den Argininanaloge wurde unter anderem durch Einkristall-

diffraktometrie der Enzym-Inhibitor-Komplexe festgestellt, dass die Carboxylfunktion bei der Enzyminhibition eine untergeordnete Rolle spielt und kaum zur Selektivität beiträgt.<sup>138</sup> Ausgehend vom Nitroarginin (L-NNA) entstehen durch die Verknüpfung der Carboxylfunktion mit einer weiteren Aminosäure Dipeptide wie Verbindung **A** in Abbildung 10 mit vergleichsweise guter Aktivität und Selektivität gegenüber der nNOS, aber mit einer nur unzureichenden Fähigkeit, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Mit dem Ziel die Lipophilie dieser Verbindungen anzupassen, wurde ausgehend von Verbindung **B** in Abbildung 10 ein breites Spektrum neuer Inhibitoren über die *de novo* Design Strategie „fragment-hopping“ hergestellt.<sup>178</sup> Dabei wird das Pharmakophor, also der Teil des Moleküls, der für die pharmakologische Wirkung verantwortlich ist, mit immer neuen Fragmenten verknüpft und anschließend auf seine Wirksamkeit und physikochemischen Eigenschaften hin überprüft. Der daraus hervorgegangene nNOS Inhibitor **C** (siehe Abbildung 10) konnte den hypoxisch-ischämisch (minderdurchblutungsbedingten Sauerstoffmangel) induzierten Tot in einem Kaninchenmodell für zerebrale Lähmung verhindern, ohne den Blutdruck zu beeinflussen und ist somit der bis dahin wirksamste beschriebene nNOS-Inhibitor.<sup>179,180</sup>

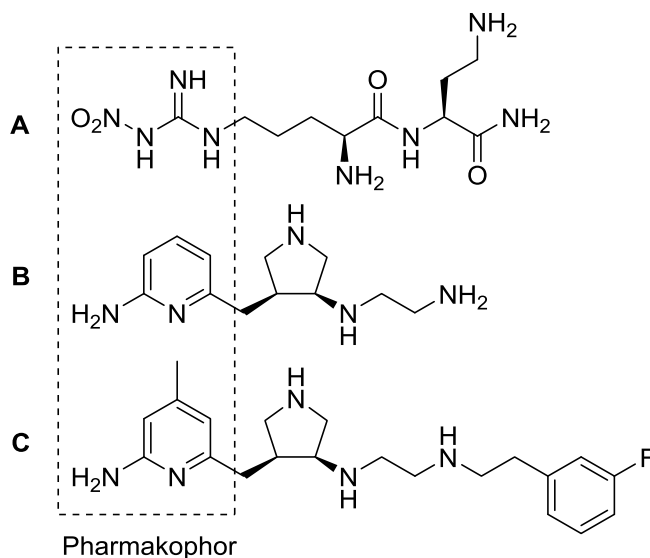


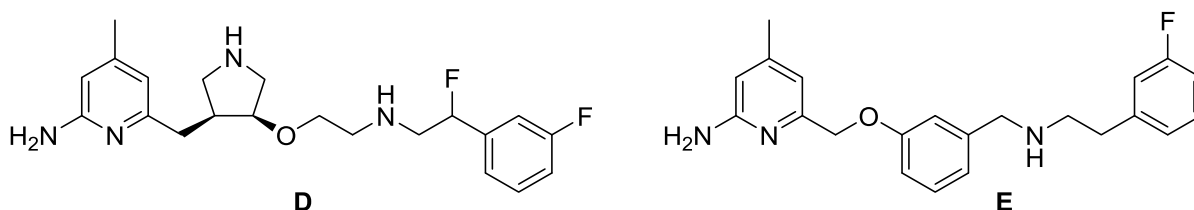
Abbildung 10: Stammbaum peptidbasierter nNOS-Inhibitoren. Der Aminopyridin-Substituent ahmt die Guanidinfunktion in L-Arginin nach, wohingegen das Pyrrolidin-Amin die Aminofunktion am Aminosäureterminus ersetzt.<sup>181</sup>

Obwohl insbesondere das *R,R*-Isomer des nNOS-Inhibitors **C** mit einem  $K_i$ -Wert von 5 nM sowie 3800facher eNOS und 700facher iNOS-Selektivität eine ausgesprochen hohe *in vitro* Wirksamkeit aufweist, konnte dennoch keine ausreichende

Bioverfügbarkeit erreicht werden.<sup>182</sup> Eine große Zahl von Ladungen und viele Wasserstoffbrückenbildner, oder eine hohe Affinität zu einem Effluxtransporter können die Hirngängigkeit eines Arzneimittels maßgeblich beeinflussen und damit die Effektivität von potentiellen Neurotherapeutika limitieren.<sup>183,184</sup> Bei physiologischem pH von 7,4 verhindert möglicherweise der polykationische Charakter des nNOS-Liganden **C** eine passive Diffusion durch die Blut-Hirn-Schranke.<sup>185</sup> Deshalb wurde ausgehend von **C** zunächst das sekundäre Amin an der Pyrrolidinfunktion mit einem geringen positiven Effekt gegen eine neutrale Etherfunktion ausgetauscht.<sup>186</sup> Weiterhin wurden mehrfachfluorierte Derivate hergestellt, die einen  $pK_s$ -verringenden Effekt auf das aliphatisch gebundene sekundäre Amin haben. So entstand der ebenfalls sehr potente und selektive nNOS-Ligand **D**, dessen  $pK_s$ -Wert im Vergleich zu **C** effektiv um zwei Einheiten reduziert werden konnte (vgl. Abbildung 11).<sup>187,188</sup>

*Tabelle 5:  $K_i$ -Werte und Enzymselektivitäten verschiedener Aminopyridinderivate als NOS-Inhibitoren (nach 187 und 190).*

Inhibitor	NOS Inhibition ( $K_i$ , $\mu M$ )			Selektivität	
	nNOS	eNOS	iNOS	nNOS / eNOS	nNOS / iNOS
<b>C</b>	0,015	31	9,5	2100	630
<b>D</b>	0,036	36	13	1000	360
<b>E</b>	0,040	10	5,9	261	147



*Abbildung 11: nNOS-Inhibitoren aus der Stoffklasse der Aminopyridine.*

Als Kompromiss aus dem hoch selektiven und potenten Liganden **C** und einigen Bisaminopyridinen<sup>189</sup> mit verbesserter Membranpermeabilität wurden eine Vielzahl von Verbindungen synthetisiert, in denen Pyrrolidin mit dem sekundären Amin gegen einen neutralen Benzenring substituiert wurde. Der auf diese Weise entstandene nNOS-Inhibitor **E** zeigt zwar geringere Isoform-Selektivitäten und eine etwas



niedrigere Potenz gegenüber **C** und **D**, integriert aber die Vorteile einer vereinfachten Synthese und einer erhöhten Lipophilie (vgl. Abbildung 11 und Tabelle 5).<sup>190</sup>

Wenngleich weder Metabolismusstudien vorliegen noch die Bioverfügbarkeit und Membranpermeabilität all dieser Verbindungen ausreichend untersucht sind, bieten sie gegenüber den argininbasierten Verbindungen dennoch ein hohes Potential hinsichtlich der Entwicklung therapeutischer Ansätze zur Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen.

#### 1.4.2 Radiomarkierte NOS-Inhibitoren

Zur quantitativen Untersuchung des *in vivo* Verhaltens eines potentiellen NOS-Inhibitors eignet sich insbesondere die PET. Mit bildgebenden Verfahren dieser Art kann der Wirkort radioaktiv markierter NOS-Derivate bestimmt werden. Darüber hinaus dienen sie diagnostischen Zwecken und können Therapieerfolge unmittelbar aufzeigen.

In den vergangenen 20 Jahren wurden vor allem substratbasierte NOS-Inhibitoren mit Fluor-18 oder mit Kohlenstoff-11 markiert und hinsichtlich ihrer Eignung als Tracer in Tiermodellen untersucht. Ein Beispiel ist das radiomarkierte S-[<sup>11</sup>C]Methyl-L-thiocitrullin.<sup>191</sup> Der nichtradioaktive Vertreter des iNOS-Inhibitors befindet sich bereits in Phase II einer klinischen Studie zur Behandlung des Migränekopfschmerzes.<sup>192,193</sup> Der <sup>11</sup>C-markierte Tracer weist jedoch eine geringe Hirngängigkeit auf und ermöglicht aufgrund der kurzen Halbwertszeit des Radionuklids keine ausgedehnten Untersuchungsprotokolle.

Weiterhin wurden PET-Tracer für die Quantifizierung der mRNA-Expression der iNOS entwickelt sowie <sup>11</sup>C- markierte oder <sup>18</sup>F-fluorethylerte Isothioharnstoffderivate. Diese wurden zur Untersuchung entzündlicher Prozesse im zentralen Nervensystem bei der Multiplen Sklerose eingesetzt.<sup>194,195</sup> Auch die hier genannten Verbindungen eignen sich aufgrund eines hohen unspezifischen Bindungsverhaltens bzw. einer zu geringen Hirngängigkeit nicht für die molekulare Bildgebung.

Von Zhou<sup>196</sup> und Mitarbeitern wurden 2008 drei Moleküle nach dem Vorbild der von Silverman et al.<sup>197</sup> entwickelten, hoch selektiven Inhibitoren als mögliche iNOS-Inhibitoren für PET-Studien identifiziert (siehe Abbildung 12). Auch hier dient die Aminopyridinfunktion als eine Art isosterischer Ersatz für die Guanidinfunktion des Arginin. Insbesondere das 2-[<sup>18</sup>F]Fluorpropyl-Derivat **F** konnte in *in vivo* Studien an

Mäusen gute Ergebnisse hinsichtlich der Selektivität des Moleküls für die iNOS erzielen (vgl. Abbildung 12).

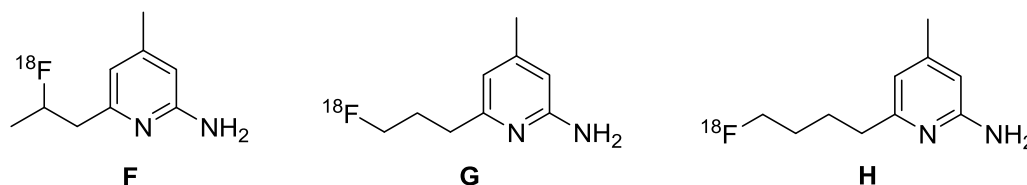


Abbildung 12: Radiofluorierte iNOS-Inhibitoren von Zhou et al. (nach 196).

In einer Micro-PET Studie an einer mit bakteriellem Lipopolysaccharid infizierten Maus konnte eine sichtbare Anreicherung des Tracers in entzündeten Bereichen demonstriert werden. Auch in Human-PET Studien konnte dieser Tracer zur Quantifizierung der iNOS-Konzentration im Herzen und anderen Geweben zufriedenstellend eingesetzt werden.<sup>198</sup> Dennoch verhinderten eine apparativ aufwändige Synthese und eine geringe radiochemische Ausbeute von nur 6 % einen routinemäßigen Einsatz und limitierten damit weiterführende präklinische Evaluierungen zum Studium von Kinetik und Metabolismus.

Das Spektrum an zu Verfügung stehenden radiomarkierten NOS-Inhibitoren ist somit sehr begrenzt. In Anbetracht vielversprechender Ergebnisse aus den früheren Studien ist eine Radiosynthese von  $^{18}\text{F}$ -markierten NOS-Inhibitoren mit den heute zur Verfügung stehenden Markierungsmethoden für die zukünftige Entwicklung potentieller Therapeutika und zum Studium neurodegenerativer und entzündlich-infektiöser Erkrankungen daher von besonderem Interesse.

Für eine  $^{18}\text{F}$ -Markierung eignen sich prinzipiell die hier vorgestellten Verbindungen aus der Stoffklasse der Aminopyridine sowohl zur Darstellung  $^{18}\text{F}$ -markierter iNOS-Inhibitoren, wie an der Verbindung **F** bereits gezeigt werden konnte, als auch zur Darstellung der ersten radiomarkierten nNOS-Inhibitoren.

## 2 Problemstellung

Das Enzym Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS) katalysiert die Bildung von radikalischem Stickstoffmonoxid (NO), welches aufgrund seiner vielfältigen physiologischen und pathophysiologischen Wirkungen heute zu einem wichtigen Forschungsobjekt geworden ist. Nicht nur im Hinblick auf die Entwicklung neuer Pharmaka zur Therapie von neuronalen und entzündlich-infektiösen Erkrankungen, sondern auch für grundlegende *in vivo* Studien spielt die Untersuchung der NOS-Aktivität mithilfe der nuklearmedizinischen Diagnostik, insbesondere der Positronen-Emissions-Tomographie (PET), unter Verwendung geeigneter, radiofluorierter NOS-Inhibitoren eine wichtige Rolle.

Die bisher entwickelten Radiotracer erweisen sich oftmals durch ein hohes unspezifisches Bindungsverhalten und eine zu geringe Hirngängigkeit als problematisch. Zudem limitieren komplexe Radiosynthesen mit nur geringen Ausbeuten weiterführende präklinische Untersuchungen. Für einen routinemäßigen Einsatz zur molekularen Bildgebung der NOS mittels PET sind sie deswegen oft nicht geeignet.

Das wissenschaftliche Ziel dieser Arbeit ist daher die Entwicklung einer Radiosynthese für die trägerarme Darstellung hochspezifischer NOS-Inhibitoren und beinhaltet neben der Entwicklung organischer Synthesen zur Darstellung der entsprechenden Markierungsvorläufer auch die Synthese benötigter Referenzverbindungen zur zweifelsfreien Identifizierung der radiofluorierten Zielsubstanzen.

Bisher sind trägerarme Radiofluorierungen aus verfahrenstechnischen Gründen nicht über den elektrophilen Weg, sondern nur ausgehend von [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid möglich. Die Überführung von nukleophilem [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid in ein elektrophiles  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenz ist daher von großer Bedeutung für die Produktion von Radiopharmaka und würden neue trägerarme elektrophile Synthesestrategien zugänglich machen.

Kommerziell verfügbare elektrophile Fluorierungsreagenzien werden ausschließlich unter Beteiligung von elementarem Fluor produziert. Eine Alternative zu diesen Prozessen wäre von großem Interesse, sodass im Rahmen dieser Arbeit die wissenschaftliche Grundlage für die Elektrosynthese zur Erzeugung eines elektrophilen Fluorierungsreagenzes auf der Basis von *N*-Fluoraminen untersucht werden soll.

Dazu eignet sich möglicherweise *N*-Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid ( $\text{Tf}_2\text{N-F}$ ). Unter Beteiligung von n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid soll basierend auf cyclovoltammetrischen Messungen die elektrochemische Bildung von *N*-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid ( $\text{Tf}_2\text{N-}^{18}\text{F}$ ) in einer modifizierten Elektrosyntheseapparatur untersucht werden. Die ionische Flüssigkeit BMPTf<sub>2</sub>N soll dabei als Leitsalz, als Lösungsmittel und als Oxidationsedukt dienen. Die Frage nach der grundsätzlichen Durchführbarkeit ist zentraler Gegenstand des Forschungsvorhabens. Sofern sich das Fluorierungsverfahren zur effektiven Direktmarkierung nichtaktivierter Aromaten eignet, würde es die Entwicklung stabiler  $^{18}\text{F}$ -markierter Arene als NO-Synthase Inhibitoren wesentlich befördern.

Aus der Stoffklasse der Aminopyridine stammt der nNOS-Inhibitor 6-((3-((3-Fluorphenylethylamino)methyl)phenoxy)methyl)-4-methylpyridin-2-amin **32**. Er eignet sich aufgrund seines Bindungsprofils und der verbesserten Membranpermeabilität als potentieller Ligand für die Analogmarkierung mit n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid. Zunächst wird eine Aufbausynthese angestrebt, bei der ausgehend von einem Iodoniumylid als Markierungsvorläufer eine Radiosynthese zu der [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorphenyl-Einheit entwickelt werden soll. Hinsichtlich einer späteren Automatisierung soll jedoch auch eine Direktmarkierung in Betracht gezogen werden.

Für die Darstellung  $^{18}\text{F}$ -markierter iNOS-Inhibitoren eignen sich beispielsweise auch substratbasierte Inhibitoren wie das (5*S*)-5-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluor-*N*6-iminoethyl-L-lysin [ **$^{18}\text{F}$ 6**]. Eine nukleophile aliphatische Substitution könnte zur Darstellung eines 5-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluor-lysin-Intermediats führen, welches nach Derivatisierung am terminalen Amin möglicherweise im wässrigen Medium zu der gewünschten Zielverbindung umgesetzt werden kann. Eine potentielle Alternative zu diesem Inhibitor stellt der Ligand 4-(2-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorpropyl)-4-methyl-2-aminopyridin [ **$^{18}\text{F}$ 18**] dar, dessen Radiosynthese unter n.c.a. Bedingungen im Rahmen dieser Arbeit für spätere *in vivo* Untersuchungen optimiert werden soll. Eine mögliche Konkurrenzreaktion limitiert bisweilen die Ausbeute der Radiosynthese und damit auch die weiterführenden *in vivo* Untersuchungen. Mithilfe angepasster Reaktionsbedingungen soll auch ein leicht zu automatisierendes Eintopfverfahren entwickelt werden, sodass neben einem  $^{18}\text{F}$ -markierten nNOS-Inhibitor zukünftig auch eine effiziente Radiosynthese des iNOS-Inhibitors für weitere präklinische Untersuchungen zur Verfügung steht.

## 3 Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Elektrosynthese elektrophiler $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzien

*Die im Folgenden diskutierten Ergebnisse der Kapitel 3.1.1 bis 3.1.3 basieren auf Arbeiten, die im Rahmen eines Verbundprojektes entstanden sind. Zum besseren Verständnis und zur Vollständigkeit sind hier Teile der bereits in der Diplomarbeit<sup>199</sup> und im Abschlussbericht<sup>200</sup> des Projektes veröffentlichten Inhalte eingebunden.*

Eine Umsetzung von Fluorid zu einem elektrophilen Fluorierungsreagenz kann mit chemischen Methoden, wie eingangs erwähnt, aufgrund der hohen Elektronegativität kaum gelingen. Aus diesem Grund bot sich ein physikalisches Verfahren der elektrochemischen Oxidation an.

#### 3.1.1 Elektrochemische Darstellung von *N*-Fluoraminen

Für die Knüpfung einer N-F-Bindung sind bereits unterschiedliche Lösungen bekannt. Mit wasserfreiem Fluorwasserstoff wurden verschiedenste Amine elektrochemisch im Rahmen des Simons-Prozesses einer Fluorierungsreaktion unterzogen.<sup>201</sup> Dazu waren üblicherweise Spannungen zwischen 5 und 6 V nötig. Unter diesen Bedingungen wurde das organische Edukt anodisch fluoriert, wobei die Protonen kathodisch in Form elementaren Wasserstoffs abgeführt wurden. Die Reaktionsbedingungen wurden für jedes Oxidationsedukt individuell angepasst. Aus Gründen, die noch nicht vollständig verstanden sind, variierten die Ausbeuten und Produktverhältnisse von Experiment zu Experiment.

Mit sekundären Aminen wurde das Produktspektrum der Umsetzung mit *N,N*-Diethylamin nach dem Simons-Prozess untersucht.<sup>202</sup> Bei einer Zellspannung von 5,2 - 5,5 V wurde *N,N*-Diethylamin nach 222 Ah ( $3,7 \text{ A/dm}^2$ ) zu verschiedenen fluorierten Produkten umgesetzt. Dazu gehörten neben diversen Spaltprodukten 3,1 %  $(\text{C}_2\text{F}_5)\text{N}=\text{CF}(\text{CF}_3)$  und 6,2 %  $(\text{C}_2\text{F}_5)_2\text{NF}$ . Als Beispiel für die Umsetzung tertiärer Amine seien die elektrochemischen Fluorierungen von *N,N*-Diethylcyclohexylamin<sup>203</sup>, Tripropylamin<sup>204</sup> und Acetonitril<sup>205</sup> angeführt. Auch hier kam es unter ähnlich drastischen Reaktionsbedingungen durch Fragmentierungen und Isomerisierungen zur Bildung eines breiten Produktspektrums, dessen Entschlüsselung nicht vollständig gelang. Dennoch fällt auf, dass zunächst die Wasserstoffatome der Alkylketten gegen Fluor ausgetauscht wurden, bevor es zur Bildung einer N-F-

Bindung kam. Es entstanden hauptsächlich poly- und perfluorierte Produkte, jedoch keine monofluorierten *N*-Fluoramine.

Selektive Fluorierungsmethoden für aromatische Verbindungen unter Beteiligung von  $\text{NEt}_3 \cdot \text{HF}$ ,  $\text{Et}_4\text{NF} \cdot n\text{HF}$  oder  $\text{Pyridin} \cdot \text{HF}$  kommen mit geringeren Fluorid-Konzentrationen aus und werden meist in Acetonitril durchgeführt.<sup>70</sup> Trotzdem ist ein 100 bis 1000-facher Überschuss an Fluorid im Vergleich zur Stoffmenge des Eduktes für all diese Reaktionen üblich.<sup>206</sup> Ein Transfer dieser Reaktionsbedingungen auf die Markierung mit n.c.a.  $^{18}\text{F}$ Fluorid ist damit nicht möglich. Außerdem gibt es kein Beispiel für eine selektive Fluorierung am Stickstoff, ohne dass es dabei in der intramolekularen Peripherie auch zur Bildung einer C-F-Bindung kommt. Diese Beobachtung wird durch einen Vergleich der mittleren Bindungsenergien bestätigt. Die C-F-Bindungsenergie liegt mit  $489 \text{ kJ mol}^{-1}$  deutlich über der Bindungsenergie von N-F, die nur  $278 \text{ kJ mol}^{-1}$  beträgt.<sup>207</sup>

Folglich liefert die Bildung einer C-F-Bindung über die elektrochemische Reaktion mehr Energie und ist thermodynamisch gegenüber der Bildung einer N-F-Bindung bevorzugt. Möglicherweise kann ein spezielles Elektrodenmaterial die Reaktionskinetik positiv beeinflussen, sodass selbst thermodynamisch benachteiligte Reaktionen durch die elektrokatalytische Wirkung der Elektrodenoberfläche bevorzugt werden.

Was in der präparativen Chemie unter Beteiligung von elementarem Fluor oder Fluortransferreagenzien (z.B.  $\text{CF}_3\text{OF}$ ,  $\text{XeF}_2$  oder  $\text{NF}_3\text{O}$ )<sup>208</sup> gelang, soll nun elektrochemisch versucht werden und zur Darstellung eines elektrophilen  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzes auf der Basis der *N*-Fluoramine führen.

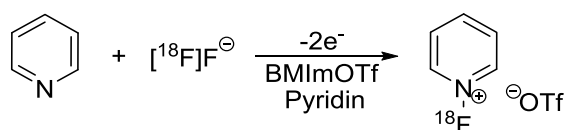
### 3.1.2 Voruntersuchungen zur Darstellung von *N*- $^{18}\text{F}$ Fluoraminen

#### *N*- $^{18}\text{F}$ Fluorpyridiniumsalze

Wie bereits in Kapitel 1.2.7 beschrieben sind *N*-Fluorpyridiniumsalze effektive elektrophile Fluorierungsreagenzien. *N*- $^{18}\text{F}$ Fluorpyridiniumtriflat konnte bislang jedoch nur unter Reaktion von  $^{18}\text{F}$  $\text{F}_2$  mit *N*-Trimethylsilylpyridiniumtriflat dargestellt werden (vgl. Schema 22) und ist für trägerarme Markierungen daher nicht einsetzbar.<sup>117</sup> Eine elektrochemische Herstellung dieser Verbindung hängt maßgeblich davon ab, auf welche Weise eine Oxidation der Edukte zur Bildung einer N-F-Bindung stattfinden kann. Eine Infrarot-Studie zur Adsorption von Pyridin an der

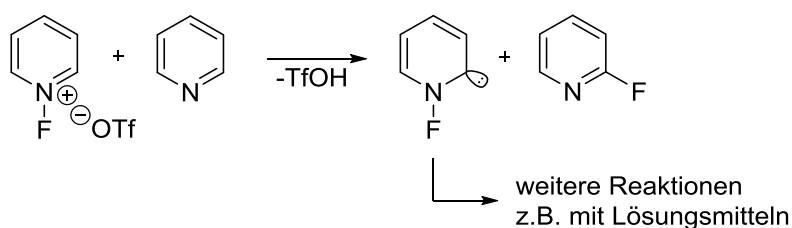
Netzebene {111} eines Platin-Einkristalls zeigt, dass bei niedriger Temperatur und einer hohen Pyridinkonzentration die Adsorption über das freie Elektronenpaar am Stickstoff erfolgt und nicht über das aromatische  $\pi$ -Elektronensystem.<sup>209</sup> Pyridin richtet sich demnach senkrecht zur Elektrodenoberfläche aus, so dass eine Oxidation am Stickstoffatom wahrscheinlich ist. Ein anschließender Angriff durch eine Fluorspezies am Stickstoff könnte dann zur Bildung einer N-F-Bindung führen.

Einige ionische Flüssigkeiten sind für ihre Redoxstabilität bekannt und eignen sich daher gleichzeitig als Leitelektrolyt und Lösungsmittel für Elektrosynthesen. Weiterhin bieten sie mit ihren großen Potentialfenstern Flexibilität bei der Wahl einer geeigneten Synthesespannung. Unter Berücksichtigung der großen Oxidationsstabilität von Pyridin (vgl. Tabelle 3, Kapitel 1.2.5) können nur Leitsalze zur Elektrosynthese von *N*-Fluorpyridinium-Verbindungen verwendet werden, die eine noch größere Redox-Stabilität aufweisen. Eine mögliche Elektrosynthese kann demnach in einem Gemisch aus einer geeigneten ionischen Flüssigkeit mit Pyridin als Syntheseedukt durchgeführt werden (vgl. Schema 28). Als Träger eignet sich eine wasserfreie Lösung aus Fluorwasserstoff und Pyridin.



Schema 28: Elektrosynthese von *N*-[<sup>18</sup>F]Fluorpyridiniumtriflat.

Die umfassende cyclovoltammetrische Untersuchung an einer Platinelektrode bestätigt die Oxidation von Pyridin mit einer Spannung, die innerhalb des Potentialfensters der ionischen Flüssigkeit liegt. So kann sichergestellt werden, dass der Leitelektrolyt BMImOTf von einer anodischen Oxidation unberührt bleibt. In darauf aufbauenden Versuchen wurde jedoch festgestellt, dass Pyridin-basierte Fluorierungsreagenzien, sofern sie bei der Elektrosynthese entstehen, einen entscheidenden Nachteil mit sich bringen.



Schema 29: Reaktion von *N*-Fluorpyridiniumtriflat mit Pyridin (nach 210).

Bei Anwesenheit einer Base (Pyridin) kommt es nach der Deprotonierung des *N*-Fluorpyridiniumions in *ortho*-Stellung zur Bildung eines Carbens, das infolge seiner hohen Reaktivität beispielsweise mit Lösungsmitteln reagiert oder durch Umlagerung 2-Fluorpyridin bildet (vgl. Schema 29).<sup>210</sup> Der eindeutige Nachweis des Entstehens einer N-F-Bindung kann somit weder durch ein Monitorsystem noch durch die Bildung von 2-Fluorpyridin gelingen. Als Zielverbindungen kamen demnach die Strukturen aus der Stoffklasse der geladenen *N*-Fluoramine für weiterführende Untersuchungen nicht in Frage.

### ***Ungeladene N-[<sup>18</sup>F]Fluoramine***

Von den ungeladenen *N*-Fluoraminen eignet sich möglicherweise *N*-Fluorbis(phenylsulfonyl)imid als Zielverbindung. Die CV-Untersuchung zeigt, dass die Durchführung einer Elektrosynthese von *N*-[<sup>18</sup>F]Fluorbis(phenylsulfonyl)imid aus Cäsiumbis(phenylsulfonyl)imid (NCsSI) in der vorgegebenen ionischen Flüssigkeit BMImOTf nicht zielführend ist. Das Potentialfenster des Leitelektrolyten ist im anodischen Potentialbereich für diese Umsetzung nicht groß genug. Durch Variation der RTIL könnte das Potentialfenster in dem Bereich jedoch entscheidend vergrößert werden.

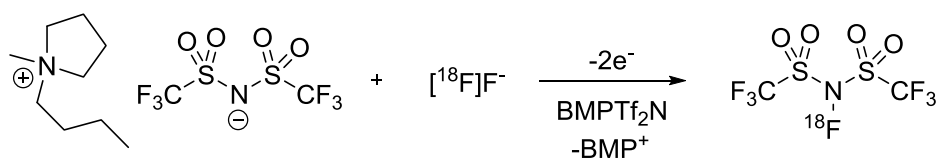
Für das Erreichen der anodischen Potentialgrenze ist üblicherweise das Anion der RTIL zuständig, ähnlich wie die Reduktion des Kations für die kathodische Potentialgrenze verantwortlich ist.<sup>211</sup> Außerdem steigt das anodische Potentiallimit proportional zu niedrigeren HOMO-Energien der Anionen.<sup>212</sup> Ionische Flüssigkeiten mit besonders oxidationsstabilen Anionen, also mit einer niedrigen HOMO-Energie, wie Tetrafluoroborat und Hexafluorophosphat, sind als Lösungsmittel für die gewünschte Elektrosynthese voraussichtlich besser geeignet. Trotzdem kommen sie aus verschiedenen Gründen als Leitelektrolyt hier nicht in Frage:

- Wenn eine RTIL mit BF<sub>4</sub><sup>-</sup>, oder PF<sub>6</sub><sup>-</sup> als Anion verwendet wird, ist eine gezielte Reduktion des Trägergehaltes nicht mehr möglich.
- Beide Anionen enthalten Fluoratome, die durch Isotopenaustausch eine Verringerung des für eine Fluorierung verfügbaren [<sup>18</sup>F]Fluorids bewirken würden. Die große Trägerkonzentration steht in Konkurrenz mit dem radioaktiven Fluorisotop. Das verringert die Wahrscheinlichkeit einer Reaktion mit [<sup>18</sup>F]Fluorid und erschwert den Produktnachweis von geringen Stoffmengen.



Mit einer geringfügigen Strukturänderung des Eduktes NCsSI kann das Elektrosyntheseverfahren jedoch deutlich vereinfacht werden.

Verbindungen aus der Stoffklasse der Sulfonimide dienen häufig als Anionen in ionischen Flüssigkeiten und sind bekannt für ihre hohe Stabilität gegenüber anodischer Oxidation.<sup>213</sup> Der Austausch der Phenylgruppen von Bis(phenylsulfonyl)imid gegen Trifluormethylfunktionen führt zu den kommerziell erhältlichen ionischen Flüssigkeiten wie 1-Butyl-1-methylpyrrolidiniumbis(trifluormethylsulfonyl)imid (BMPTF<sub>2</sub>N). Es bestand also die Möglichkeit das Elektrosyntheseverfahren deutlich zu vereinfachen (vgl. Schema 30) und eine ionische Flüssigkeit als Leitsalz, Lösungsmittel und als Edukt für die Darstellung von *N*-[<sup>18</sup>F]Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid einzusetzen.



Schema 30: Darstellung von *N*-[<sup>18</sup>F]Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid durch elektrochemische Oxidation.

Für erste Syntheseveruche stand eine etablierte Elektrosynthesezelle aus der Synthese von [<sup>18</sup>F]Altanserin zur Verfügung.<sup>27,214</sup> Einzelheiten zur Syntheseapparatur sind dem experimentellen Teil zu entnehmen. Durch Anlegen einer anodischen Spannung ermöglicht diese Zelle eine effiziente Fixierung von n.c.a. [<sup>18</sup>F]Fluorid an Glaskohlenstoff. Diese Elektrodeposition stellt den ersten Schritt für eine mögliche Elektrosynthese des Fluorierungsreagenzes dar.

Für die weitere Untersuchung ist die Kenntnis der chemischen Form des auf diese Weise zur Verfügung gestellten Fluor-18 unverzichtbar. Ursprünglich war man von einer elektrostatischen Adsorption von [<sup>18</sup>F]Fluorid an der Elektrodenoberfläche ausgegangen.<sup>215</sup> Später untersuchten *Kügler* et al. systematisch die Elektrodeposition von [<sup>18</sup>F]Fluorid aus der wässrigen Targetlösung in organische Lösungsmittel an verschiedenen Kohlenstoffmodifikationen.<sup>28</sup> Es wurde festgestellt, dass offenbar nur Kohlenstoffmodifikationen mit einem Anteil sp<sup>2</sup>-konfigurierten Kohlenstoffes in der Lage sind, Fluorid zu fixieren, was die These der Bildung von Interkallationskomplexen stützt. Diese Theorie der elektrochemischen Einlagerung von Fluorid in Festkörper stammt ursprünglich aus der Entwicklung von Lithium-Ionen-Akkumulatoren.<sup>216</sup> Die Beobachtungen von *Kügler* et al. decken sich auch mit

den Resultaten ähnlicher Elektrodepositionsversuche mit [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid an Metallelektroden. Über die Photoelektronenspektroskopie untersuchten *Sadeghi et al.*<sup>26</sup> die Elektrodenoberflächen nach elektrochemischer Fixierung makroskopischer Mengen Fluorid und stellten die Depositionseffizienz in einen direkten Zusammenhang mit der Tiefe der Interkallation und mit an der Oberfläche befindlichen Oxiden. Die Bindungseigenschaften zwischen den fixierten Fluoratomen und der Elektrodenoberfläche wurden nicht genauer charakterisiert. Die Reversibilität dieses Prozesses weist jedoch auf van-der-Waals-Wechselwirkungen hin.

Überlegungen zum Ablauf der nach der Fixierung stattfindenden Elektrodenprozesse sind essentiell für einen systematischen Untersuchungsfortschritt. Wenn [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid mit einem Imid elektrochemisch an einer Elektrode unter Bildung einer N-F-Bindung verknüpft werden soll, muss jeweils eines der beiden Edukte (Imid oder Fluorid) anodisch oxidiert werden und formal als Elektrophil mit dem jeweils anderen Edukt reagieren. Die selektive Oxidation von Fluorid in Anwesenheit der ionischen Flüssigkeit ist nicht zu erwarten. Als Element mit der höchsten Elektronegativität wird Fluor auch in der Zielverbindung nicht derart polarisiert werden, dass es partial eine positivere Ladung trägt als die Gruppe, an die es gebunden ist. Auch die Zweielektronenoxidation des Anions  $\text{Tf}_2\text{N}^-$  zu einem einwertigen Kation, das nach Angriff durch [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid die N-F-Bindung liefern könnte, scheint unwahrscheinlich. Wäre dieses Kation thermodynamisch stabil, so wäre das korrespondierende Fluorierungsreagenz bestrebt, das Fluoratom in Form des Anions zu übertragen.

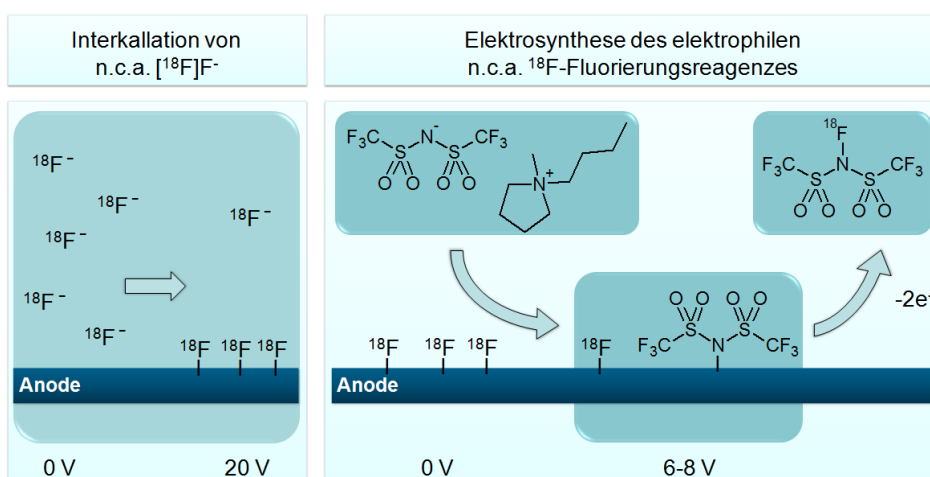


Abbildung 13: Synthesekonzept für die Darstellung von  $\text{Tf}_2\text{N}-[^{18}\text{F}]\text{F}$ .

Die Bildung von Fluorradikalen kann jedoch schon bei einer durchschnittlichen Spannung von 3-4 V beobachtet werden.<sup>217</sup> Wahrscheinlicher ist deshalb eine

Einelektronenoxidation des Anions  $\text{Tf}_2\text{N}^-$  zu einem mesomeriestabilisierten und neutralen Radikal, das mit dem an der polarisierten Elektrode fixierten  $^{18}\text{F}$ Fluorid nach Ko-Oxidation unter Bildung der gewünschten N-F-Bindung reagiert (vgl. Abbildung 13). Für die Untersuchung zur Eignung der ionischen Flüssigkeit BMPTf<sub>2</sub>N als mögliches Elektrosyntheseedukt waren zunächst grundlegende cyclovoltammetrische Messungen durchzuführen.

### 3.1.3 CV-Untersuchungen von BMPTf<sub>2</sub>N an Platin

Die durchgeführten Cyclovoltammetrie (CV)-Experimente sollten für spätere Elektrosyntheseversuche nicht nur Auskunft über die Größe des Potentialfensters des verwendeten Elektrolyten geben. Sie sollten auch Informationen über die elektrochemischen Eigenschaften des Anions der ionischen Flüssigkeit ( $\text{Tf}_2\text{N}^-$ ) liefern, insbesondere über dessen Oxidierbarkeit. Für eine elektrochemische Umsetzung zu einer N-F-Bindung sollte das Anion  $\text{Tf}_2\text{N}^-$  bei einem geeigneten Potential zum neutralen Radikal oxidiert werden. Hinsichtlich der geplanten Elektrosynthese war somit im Vorfeld mittels CV die Frage zu klären, ob es im betrachteten Potentialbereich eine elektrokatalytische Aktivität der Elektroden gegenüber dem Anion  $\text{Tf}_2\text{N}^-$  geben kann. Es war nicht von Interesse bei welcher exakten Spannung diese Reaktion stattfindet. Eine Übertragung der ermittelten Oxidationsspannung auf die darauffolgende Elektrosynthese ist aufgrund der im Vergleich zur CV-Messzelle sehr viel komplexeren Zellgeometrie und der verschiedenen Elektrodenmaterialien nicht sinnvoll. Die zur Verfügung stehende Arbeitselektrode der CV-Messzelle besteht aus Platin, wohingegen die für die Elektrosynthesen verwendete Elektrode aus Glaskohlenstoff gefertigt ist. Da der Fokus dieser Messungen auf der qualitativen Beobachtung von Maxima im anodischen Potentialbereich lag und es sich stets um einen nur aus einer Komponente bestehenden Elektrolyten handelte, konnte auf die Verwendung einer Referenzelektrode verzichtet werden.

Abbildung 6.2 im Anhang zeigt den zweiten Zyklus des Cyclovoltammogrammes von BMPTf<sub>2</sub>N an Platin im Potentialbereich von -0,5 und 3 V. Schon bei einer Vorschubgeschwindigkeit von 100 mV/s konnte bei etwa 2,6 V eine Oxidation in positiver Vorschubrichtung beobachtet werden. Die systematische Erweiterung des zu testenden anodischen Potentialbereiches auf 4 V bestätigte das Ergebnis wie die Vergrößerung in Abbildung 6.4 im Vergleich zu Abbildung 6.3 zeigt. Auch die Höhe der am Maximum beobachteten Ströme lagen mit  $1,2 - 1,4 \cdot 10^{-5}$  A in einer vergleich-

baren Größenordnung. Zur Anpassung der Potentialvorschubgeschwindigkeit auf die Reaktionsgeschwindigkeit der beobachteten heterogenen Reaktion zwischen Elektrode und Elektrolyt wurden Cyclovoltammogramme zwischen -3,5 und 3,5 V bei 25 und 1000 mV/s aufgenommen (Abbildung 6.5, 6.6 und 6.7). Entsprechend der höheren Vorschubgeschwindigkeit wurden im Vergleich zur Messung bei 25 mV/s insgesamt deutlich höhere Ströme beobachtet. Im anvisierten Potentialbereich war die vorher beobachtete anodische Oxidation weiterhin zu beobachten, wobei das Signal bei der geringeren Vorschubgeschwindigkeit deutlich ausgeprägter war, was für einen langsamen Oxidationsprozess sprach. Für alle folgenden Messungen wurde daher eine Vorschubgeschwindigkeit von 25 mV/s zugrunde gelegt. Das Maximum verschob sich ohne Referenzelektrode nur um wenige zehntel Volt zu 2,7 V bei 25 mV/s und zu 2,8 V bei 1000 mV/s. Wie zu erwarten war, steigen die beobachteten Ströme mit höherer Vorschubgeschwindigkeit deutlich an. Da in Abbildung 6.7 kurz vor dem Umkehrpotential von 3,5 V in positiver Vorschubrichtung eine Schulter im Kurvenverlauf zu erkennen war, wurde der Potentialbereich auf 5 V erweitert.

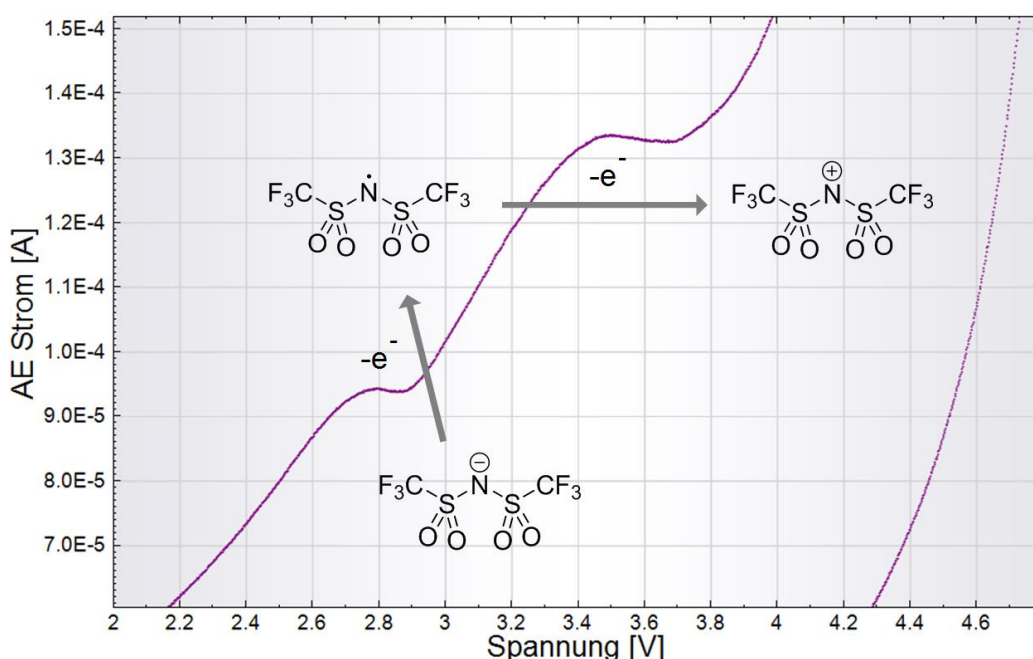


Abbildung 14: Cyclovoltammogramm von  $\text{BMPTf}_2\text{N}$  zwischen -5 V und 5 V bei 25 mV/s an Platin.

Das Cyclovoltammogramm von  $\text{BMPTf}_2\text{N}$  zwischen -5 V und 5 V bei 25 mV/s an Platin (vgl. Abbildung 14) zeigt in der Vergrößerung des anodischen Potentialastes zwei definierte Maxima, bevor bei weiterer Steigerung des angelegten Potentials die

Stromstärke stark ansteigt und die Zersetzung der IL einsetzt. In positiver Potentialvorschubrichtung wird bei einer Spannung von 2,8 V vermutlich zunächst das Anion  $\text{Tf}_2\text{N}^-$  zum Radikal oxidiert und liefert im weiteren Verlauf bei 3,5 V nach Abgabe eines zweiten Elektrons das instabile Kation. Anschließend wurde im gleichen Potentialbereich ein CV mit einer Vorschubgeschwindigkeit von 100 mV/s gemessen. Abbildung 6.8 zeigt das vollständige Cyclovoltammogramm. In Abbildung 6.9 ist die Vergrößerung des anodischen Potentialastes der Messungen zwischen -5 und 5 V bei 25 mV/s und bei 100 mV/s dargestellt. Demzufolge sind die Maxima bei höheren Vorschubgeschwindigkeiten nur noch schwach ausgeprägt, was die Vermutung einer langsamen Oxidationsreaktion bestätigt.

Explizite CV-Untersuchungen zeigten einen konkreten Oxidationsprozess vor der Zersetzung der IL. Ob es sich dabei um das neutrale Radikal und das korrespondierende Kation als Produkt der anodischen Umsetzung von  $\text{Tf}_2\text{N}^-$  handelte, sollten fortführende Untersuchungen in Zusammenarbeit mit dem Zentralinstitut für Engineering, Elektronik und Analytik (FZJ-ZEA-3, Analytik) und mit dem Institut für Energie und Klimaforschung (FZJ-IEK-5, Photovoltaik) zeigen. Im ZEA-3 konnte mittels Online-Massenspektrometrie und einer maximal einsetzbaren Spannung von 2,5 V die Existenz potentieller Kationen nicht nachgewiesen werden. Weil sich die Kationen erst bei höherer Spannung bilden sollten, ist das beobachtete Fehlen nicht aussagekräftig. Die *in situ* Elektronenspinresonanz-Untersuchung des IEK-5 konnte ebenfalls keinen eindeutigen Nachweis etwaiger Radikale liefern. Falls die auf der verwendeten CuO-Elektrode oxidierten Moleküle dort auch eine Fixierung erfahren, wird die Zahl der freien Radikale deutlich verringert. Das für die ESR-Messung wichtige freie Elektron täuscht eine Bindung vor und ist infolgedessen kaum detektierbar.<sup>200</sup>

Wenn die reaktive Spezies nur auf der Elektrodenoberfläche existent ist, muss die Elektrosynthese der N-F-Komponente auf der gleichen Elektrode stattfinden, in der zuvor das  $^{18}\text{F}$ Fluorid interkaliert wurde. Für ein solches Synthesekonzept eignete sich besonders die o.g. Elektrosynthesezelle, die aufbauend auf den bisherigen Ergebnissen für die ersten Elektrosyntheseversuche verwendet wurde.

#### 3.1.4 Radioaktive Elektrosyntheseversuche mit direktem Analysekonzept

Aufgrund der Ergebnisse aus der ESR-Messung ist bei den Elektrosyntheseversuchen nicht mit einem hohen Stoffumsatz zum gewünschten Produkt zu

rechnen. Es muss davon ausgegangen werden, dass unter diesen Bedingungen allenfalls nur kleinste Mengen des Fluorierungsreagenzes entstehen. Weil auch für die anschließende Radioanalytik nach Abtrennung des nicht umgesetzten [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids noch genügend Aktivität zur Verfügung stehen muss, sind hohe Startaktivitäten unumgänglich. Zwangsläufig musste daher ein ferngesteuerter Prozess entwickelt werden. Als Basis für die Elektrosyntheseapparatur diente ein zur Synthese von [ $^{18}\text{F}$ ]Altanserin verwendetes Modul.<sup>214</sup> Es wurde auf den hier benötigten Syntheseprozess adaptiert. Ein Längsschnitt der Elektrosyntheseeinheit ist in Abbildung 15 dargestellt.

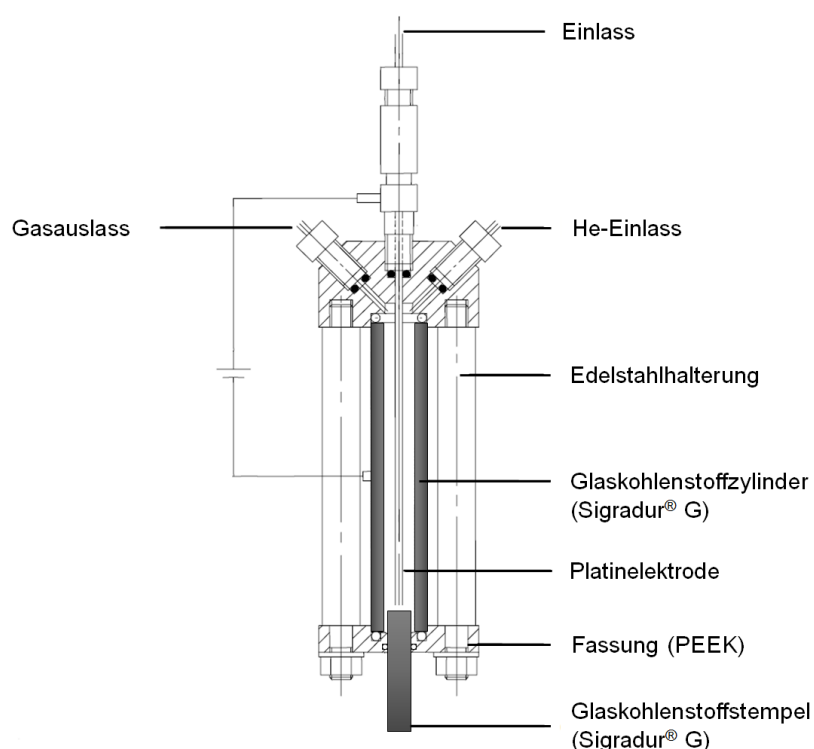


Abbildung 15: Längsschnitt der Elektrosynthesezelle zur Radiofluorierung (nach 27).

Vor jeder Elektrosynthese musste die gesamte Apparatur vollständig demontiert sowie chemisch und mechanisch gereinigt und getrocknet werden, um elektrochemische Konkurrenzreaktionen mit Wasser oder Lösungsmittelrückständen zu vermeiden. Aufgrund der hygroskopischen Eigenschaften von  $\text{BMPTf}_2\text{N}$  war insbesondere auch während der Synthese darauf zu achten, dass alle Leitungen, Ventile und Gefäße, die mit der IL in Kontakt kamen, stets einer intensiven Reinigung und Trocknung unterzogen wurden. Daher wurden alle relevanten Bauteile nach der Interkalation des n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids mehrfach mit Aceton durchspült und anschließend mit Helium getrocknet.

Aufgrund der hohen Viskosität der hier verwendeten ionischen Flüssigkeiten BMPTf<sub>2</sub>N kam es zwischen Vorratsgefäß und Reaktor zu einem nicht unerheblichen Substanzverlust, sodass stets deutlich größere Volumina eingesetzt werden mussten, als der optimale Füllstand der Zelle erlaubte. Bei hochgefahrenem Stempel benetzte die ionische Flüssigkeit immer mindestens die mit [<sup>18</sup>F]Fluorid beladene Fläche des Sigradur®G-Zylinders. Nach einer 5-8 minütigen Elektrosynthese bei maximal 10 mA und einer Spannung von 5-7 V wurde das Produkt zur Entfernung ionischer Bestandteile über eine Kieselgelkartusche geleitet und konnte mittels Radio-HPLC untersucht werden.

Das Radiochromatogramm des Syntheseproduktes zeigt reproduzierbar, mit oder ohne Kieselgelaufreinigung, ein Signal bei etwa 6 min (vgl. Abbildung 16). Diese Retentionszeit entspricht in etwa der des ähnlich lipophilen und kommerziell erhältlichen *N*-Fluorbis(phenylsulfonyl)imids (log P: 2,52; zum Vergleich log P[Tf<sub>2</sub>N-F]: 2,30).<sup>218</sup> Aufgrund der zu erwartenden Instabilität von Tf<sub>2</sub>N-[<sup>18</sup>F]F gegenüber dem HPLC-Laufmittel ist für die Durchführung eines direkten, zweifelsfreien und eindeutigen Nachweises die Synthese des authentischen Standards unumgänglich.

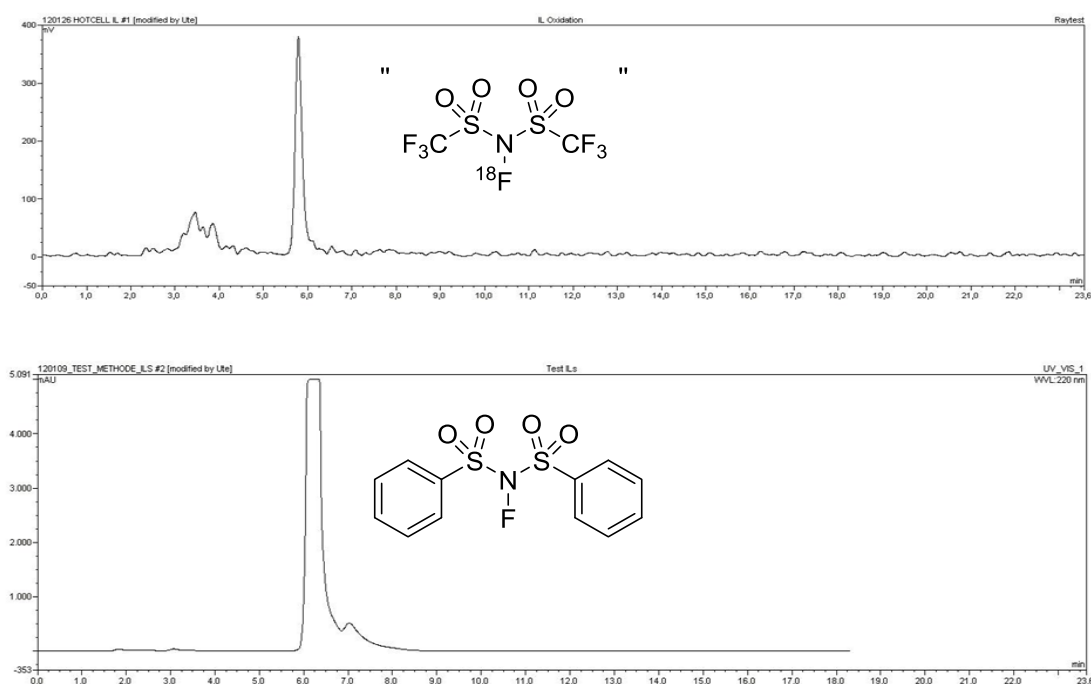
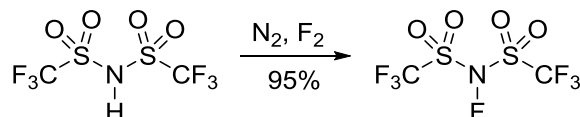


Abbildung 16: Radiochromatogramm des Elektrosyntheseproduktes (oben); UV-Chromatogramm des Pseudostandards (unten).

### **Darstellung von *N*-Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid**

Wegen der zu beachtenden Sicherheitsstandards wurde die Synthese von *N*-Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid über die elementare Fluorierung von Bis(trifluormethylsulfonyl)imid  $\text{F}_3\text{C-SO}_2\text{-N-H}$  in Zusammenarbeit mit Prof. Willner der Bergischen Universität Wuppertal durchgeführt.



Schema 31: Direkte Fluorierung von Bis(trifluormethylsulfonyl)imid zu *N*-Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid.<sup>122,125</sup>

Nach Behandlung von Bis(trifluormethylsulfonyl)imid mit elementarem Fluor wurde das gewünschte Produkt mit einer Ausbeute von 25 % erhalten (Lit. 95 %, vgl. Schema 31).<sup>122</sup> Das IR-Spektrum der Gasphase entspricht den Literaturangaben.<sup>219</sup> Nach der Fluorierungsreaktion war ein Restdruck zu messen, der in etwa dem Partialdruck von 1 mmol  $\text{F}_2$  entspricht. Vom eingesetzten Stoffmengenüberschuss (2 mmol) ist lediglich die Hälfte im Edelstahlgefäß verblieben, was zunächst für eine gute Umsetzung spricht. Die dennoch beobachtete relativ niedrige Ausbeute ist möglicherweise auf ein nicht ausreichend trockenes Edukt oder auf eine mangelnde Passivierung des Reaktionsbehälters zurückzuführen. Außerdem kann es gelegentlich beim Aufwärmen der Edelstahlflasche auf Raumtemperatur zu einer unkontrollierten Überreaktion kommen, was ebenfalls eine niedrige Ausbeute nach sich zieht.<sup>123</sup>

### **Radioanalytischer Nachweis des *N*-Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imids**

Grundsätzlich standen mehrere radioanalytische Verfahren für den Nachweis des  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenz zur Verfügung. Vordergründig sind dabei chromatographische Methoden, wie Radio-HPLC (engl. high performance liquid chromatography), Radio-DC (Dünnschichtchromatographie) und Radio-GC (Gaschromatographie). 1991 wurde über die überraschende Stabilität von  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  gegenüber Wasser berichtet, sodass Fluorierungsreaktionen mit diesem Reagenz theoretisch auch in wässrigen Zweiphasensystemen durchgeführt werden können.<sup>125</sup> Aus diesem Grund wurde zunächst ein Radio-HPLC Verfahren angestrebt.



Die Elution des hergestellten Standards  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  in einem Laufmittelgemisch aus 50 % Acetonitril (MeCN) und 50 % Wasser über eine RP-Säule (engl. reversed phase; die stationäre Phase besteht aus einem unpolar modifizierten Kieselgelgerüst) deutet nach ersten HPLC-Untersuchungen auf die Bildung polarer Hydrolyseprodukte hin. Bei einer Wellenlänge von 220 nm werden drei Signale mit sehr schwachem Retentionsverhalten beobachtet (vgl. Abbildung 17).

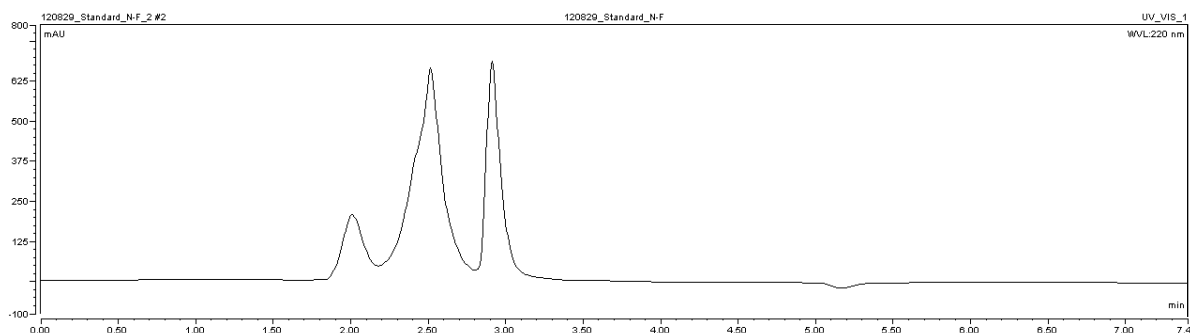
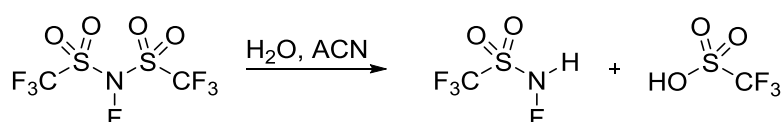


Abbildung 17: UV-Kanal des HPLC-Chromatogramms von  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  (HPLC-System 2, 220 nm; mobile Phase: 70 MeCN : 30  $\text{H}_2\text{O}$ , 1 mL/min; stationäre Phase: Gemini 5  $\mu\text{m}$  C18, 110 Å, 250 x 4,6 mm).

Die Instabilität des Reagenzes in diesem wässrigen Medium wurde 1992 von *DesMarteau* et al. in einer Publikation zur Anwendung von *N*-Fluorbis(perfluoralkylsulfonyl)imiden bestätigt.<sup>105</sup> Demnach liefert die Hydrolyse in einem Gemisch aus Acetonitril und Wasser *N*-Fluor(trifluormethylsulfonyl)amid ( $\text{TfN-FH}$ ) und Trifluoressigsäure (vgl. Schema 32).



Schema 32: Hydrolyse von  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  im Zweiphasensystem Acetonitril/Wasser (nach 105).

Mittels Radio-HPLC könnten je nach Hydrolysegeschwindigkeit möglicherweise nur noch die Hydrolyseprodukte des elektrophilen Fluorierungsreagenzes nachgewiesen werden. Die Radioanalytik musste infolgedessen auf den Nachweis von  $\text{Tf}_2\text{N-}^{18}\text{F}$  und  $^{18}\text{F}$  $\text{TfN-FH}$  neben freiem  $^{18}\text{F}$ Fluorid ausgerichtet werden. Zur zweifelsfreien Identifizierung der im UV-Kanal beobachteten Signale nach Elution der  $^{19}\text{F}$ -Referenzverbindung  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  (vgl. Abbildung 17) wurden LC-MS-Messungen durchgeführt. Sie sollten die eindeutige Zuordnung der in UV-Kanal beobachteten Substanzen mit den Radioaktivprodukten im  $\gamma$ -Kanal ermöglichen (vgl. Abbildung 18).

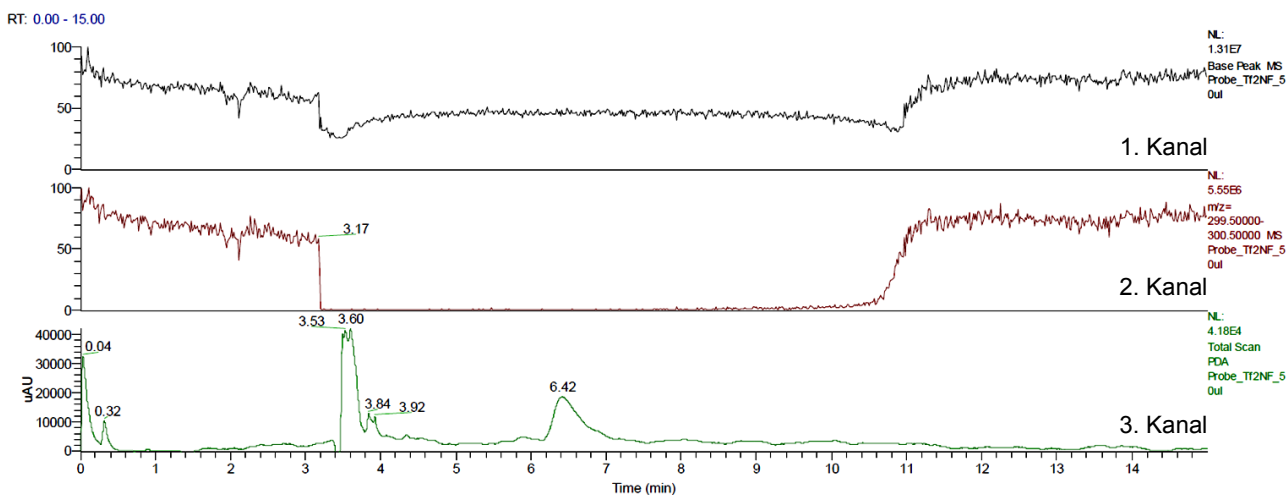


Abbildung 18: LC-MS Chromatogramme der Untersuchung von  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  in MeCN und Wasser (v/v 1:1) mit Phenomenex Gemini 5  $\mu\text{m}$  C18 110 Å, 250 x 4.60 mm bei 0,7 mL/min; 1. Kanal: Intensität des gesamten Massenspektrums; 2. Kanal: Intensität im Massenbereich der gesuchten Substanz  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  (299,13  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ); 3. Kanal: Intensität des UV-Signals).

Die LC-MS-Untersuchung konnte die Existenz der N-F-Komponenten weder bestätigen noch ausschließen. Das MS-Signal wurde bei Eintritt der eluierten Substanzen in das Gerät bei 3,17 min (vgl. 2. Kanal, Abbildung 18) supprimiert, sodass auch ein indirekter Nachweis des gewünschten Produktes über seine Hydrolyseprodukte auf diese Weise nicht möglich ist. Das UV-Chromatogramm dieser Messung ist nur bedingt mit dem UV-Chromatogramm aus Abbildung 17 vergleichbar. Ersteres offenbart die Detektion über einen weiten Wellenlängenbereich, wohingegen letzteres die Maxima mit einer Wellenlänge von 200 nm anzeigt. Außerdem waren die Flussgeschwindigkeiten unterschiedlich. Der Fluss bei LC-MS-Messungen ist zugunsten höherer Ansprechwahrscheinlichkeiten für gewöhnlich um 30 % reduziert. Eine längere Verweildauer des  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  im wässrigen Medium kann sich somit auf die Produktverhältnisse der Hydrolysereaktion auswirken und damit ein verändertes UV-Chromatogramm zur Folge haben.

Zusammenfassend ist ein unmittelbarer Nachweis der N-F-Komponente nach einer durchgeführten Radioelektrosynthese mittels HPLC aufgrund der nicht möglichen Zuordnung des Standards  $\text{Tf}_2\text{N-}[^{19}\text{F}]\text{F}$  im UV-Kanal mit  $\text{Tf}_2\text{N-}[^{18}\text{F}]\text{F}$  oder entsprechender Sekundärprodukte im  $\gamma$ -Kanal ausgeschlossen.

Der Dampfdruck von  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  liegt mit etwa 30 Torr in der Größenordnung des Dampfdruckes von Ethanol.<sup>122</sup> Aus diesem Grund bot sich auch Radio-GC als

mögliche direkte Nachweismethode für die Identifizierung und Quantifizierung des Produktes  $\text{Tf}_2\text{N}-[^{18}\text{F}]\text{F}$  an. Hierbei konnten zur Probenvorbereitung Lösungsmittel verwendet werden, die auch für elektrophile Fluorierungsreaktionen mit diesem Reagenz verwendet wurden, wie z.B. Chloroform und Tetrachlormethan.<sup>123</sup> Eine Zersetzung durch das Lösungsmittel war somit nicht zu erwarten.

Auf der verwendeten GC-Säule wies das Produkt nach Durchlaufen des Flammenionisationsdetektors eine unerwünschte Peaksymmetrie auf. Beim sogenannten Tailing ist der Frontanstieg des Produktpeaks steiler als der Peakabfall. Dieses Retentionsverhalten spricht für eine ungeeignete Wechselwirkung der Probe mit dem Säulenmaterial. Eine solche Peakverbreiterung wirkt sich auch negativ auf die Detektierbarkeit des Radioaktivproduktes aus. Dennoch wurden testweise zwei Elektrosynthesen durchgeführt. Ein Radioaktivsignal konnte bei den anschließenden Radio-GC-Messungen nicht gefunden werden, was jedoch auch mit der möglicherweise nicht ausreichenden Empfindlichkeit des  $\gamma$ -Detektors gegenüber den geringen Aktivitäten der Probe zusammenhängen kann. Im Vergleich zu einem HPLC-System sind die Nachweisgrenzen am Radio-GC schon aufgrund der 20fach kleineren Injektionsvolumina deutlich ungünstiger, wodurch der Nachweis geringer Aktivitäten erheblich erschwert wird.

Ein Nachweisverfahren mittels Radio-DC hätte den Vorteil, dass selbst geringste Aktivitätsmengen durch die Verlängerung der Messzeiten detektiert werden können. Diese Analysemethode kommt jedoch aufgrund des Dampfdruckes von  $\text{Tf}_2\text{N}-\text{F}$  und der daraus resultierenden Verdampfungsgefahr des Analyten von der stationären Phase nicht in Frage.

Zusammenfassend konnte ein direkter Nachweis durch Fehlen eines für die Spurenanalytik dieses  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzes geeigneten Analyseverfahrens nicht erfolgen. Der direkte Nachweis mittels Radio-GC erwies sich als höchst unsicher und ist mit zu vielen Fehlerquellen behaftet, um eine eindeutige und zweifelsfreie Identifizierung des gewünschten Produktes zu gewährleisten.

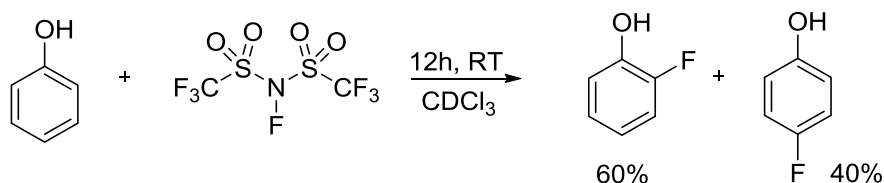
### 3.1.5 Radioaktive Elektrosyntheseversuche mit indirektem Analysekonzept

Der direkte Nachweis des elektrophilen  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzes  $\text{Tf}_2\text{N}-[^{18}\text{F}]\text{F}$  war wie oben ausgeführt nicht mit Sicherheit möglich, sodass eine indirekte Nachweismethode über ein mittels HPLC oder DC gut detektierbares und für die elektrophile

Substitution aktiviertes Monitormolekül zu entwickeln war. Als Nachweisreagenzien (Monitore) für das nach elektrosynthetischer Umsetzung produzierte Fluorierungsreagenz eignen sich z.B. Phenol, Anisol und viele weitere Verbindungen, die bereits makroskopisch mit  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  erfolgreich umgesetzt wurden.<sup>123</sup>

### **Nachweis mittels Phenol**

Als möglicherweise ausreichend aktivierter Aromat gilt Phenol, welches mit Ausbeuten von etwa 60 % nach elektrophiler Fluorierung das *ortho*- und mit 40 % das *para*-substituierte Produkt lieferte.<sup>122</sup> Zu einem geringen Anteil wurden daneben auch polyfluorierte Verbindungen beobachtet.



Schema 33: Reaktion von  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  mit Phenol (nach 122).

Die fluorierten Phenolderivate ließen sich mittels HPLC ausgezeichnet vom Edukt Phenol trennen und sind damit gut nachzuweisen (vgl. Abbildung 6.10 im Anhang). Das Elektrosyntheseprotokoll wurde entsprechend angepasst, sodass gleich nach Abschalten der Elektrosynthesespannung Phenol gelöst in Acetonitril in die beheizbare Elektrosyntheseinheit geleitet wurde. Für die Reaktion des Elektrosyntheseproduktes mit Phenol wurde testweise die Reaktion nach 15 min bei 50 °C abgebrochen und nach chromatographischer Aufreinigung mittels Kieselgelkartusche zur Befreiung von ionischen Bestandteilen mittels Radio-HPLC untersucht.

Im Radioaktivitäts-Kanal ( $\gamma$ -Kanal) des Chromatogramms (vgl. Abbildung 6.11) fällt zunächst ein Signal mit großem Integral bei einer Retentionszeit von etwa 2,5 min auf, dass deutlich vor dem Fluorierungsedukt Phenol retardierte. Dieses Hauptprodukt wurde nicht näher charakterisiert. Nicht umgesetztes  $^{18}\text{F}$ Fluorid wird nahezu quantitativ durch die Kieselgelkartusche abgetrennt und lässt sich mit der ionischen Flüssigkeit nicht mehr eluieren. Folglich musste es sich bei dem Produkt um ein neu entstandenes Radioaktivprodukt handeln. Bei 8,5 min (rot) zeigt sich mit einem niedrigen Signal-Rausch-Verhältnis ein mögliches Produkt, dass eindeutig in den Retentionsbereich des 2- und 4-Fluorphenols fällt, wie im direkten Vergleich mit dem UV-Kanal der Trennung der Phenolderivate zu sehen ist (vgl. Abbildung 19).

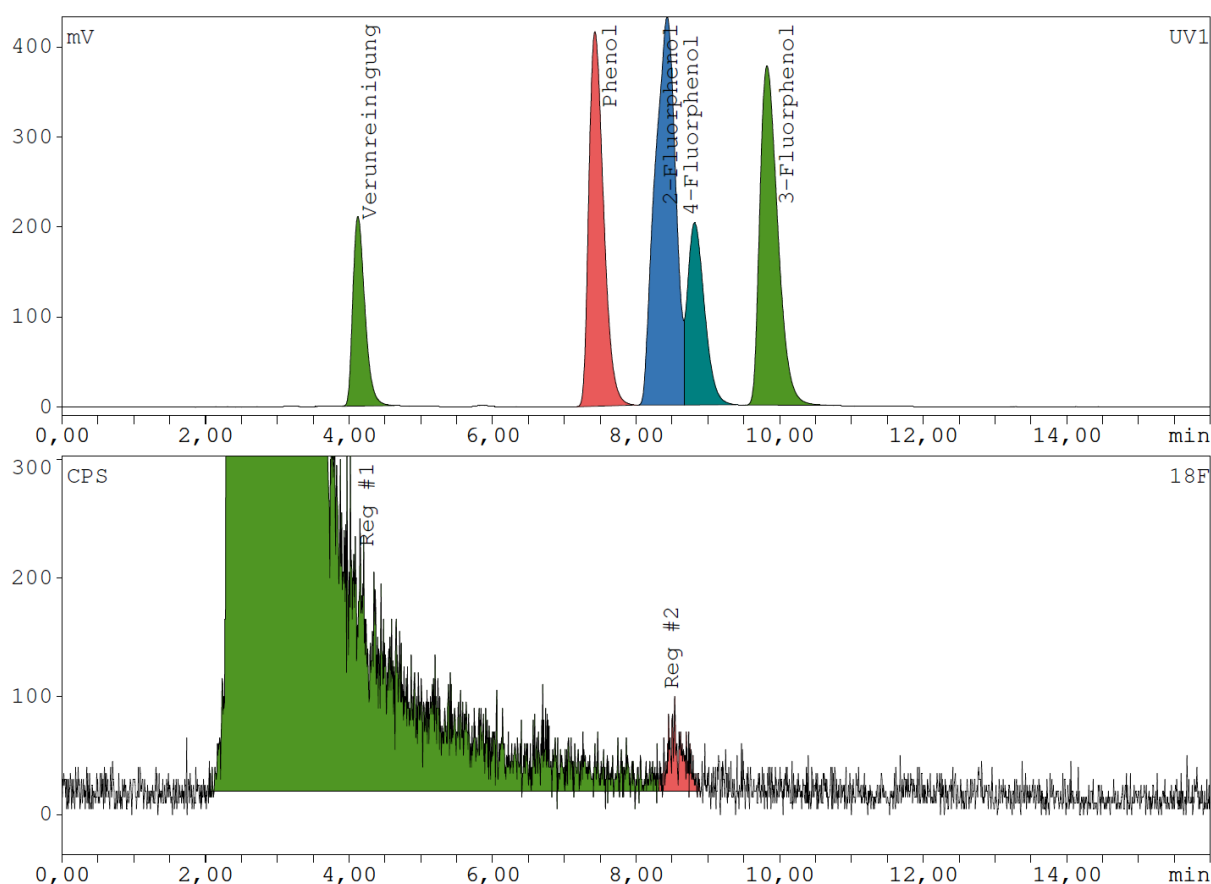


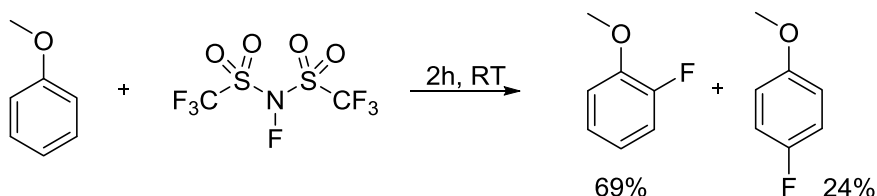
Abbildung 19: UV-Chromatogramm (oben) der Trennung von Phenol, o-, m- und p-Fluorphenol und  $\gamma$ -Kanal (unten) der Radio-HPLC-Trennung nach Elektrosynthese und Monitorsynthese mit Phenol (HPLC-System 1, Methode 1).

Eine längere Retentionszeit der Fluorphenolderivate hätte eine bessere Trennung vom polareren Radioaktivprodukt zur Folge und könnte in einem höheren Signal-Rausch-Verhältnis resultieren. Eine solche Verschiebung zu höheren Retentionszeiten bewirkt jedoch gleichzeitig eine Signalverbreiterung, die sich negativ auf die Detektierbarkeit und damit nachteilig auf den Nachweis der geringen Produktmengen auswirkt. Eine strukturelle Veränderung der Monitorverbindung, hin zu einem etwas unpolaren Reagenz, würde entsprechend der stationären Umkehrphase der HPLC-Säule ein stärkeres Retentionsverhalten verursachen und damit ohne Signalverbreiterung eine Verschiebung vom unbekannten polaren Radioaktivprodukt zu höheren Retentionszeiten ermöglichen. Für einen zweifelsfreien Nachweis wurde daher ein neues Monitormolekül ausgewählt.

### **Nachweis mittels Anisol**

Das dem Phenol nah verwandte aber aprotische Anisol bewirkt gerade die gewünschte Signalverschiebung hin zu längeren Retentionszeiten (vgl. Abbildung

6.12). Auch hier lassen sich alle monofluorierten Derivate vom Edukt Anisol gut trennen. Die Umsetzung mit  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  ist ebenfalls literaturbekannt und lieferte nach 2 h bei RT das *ortho*-Produkt mit einer Ausbeute von etwa 69 % und das *para*-Produkt mit 24 % (vgl. Schema 34).<sup>122</sup> Zu einem geringen Anteil werden bei der makroskopischen Synthese auch polyfluorierte Verbindungen beobachtet.



Schema 34: Reaktion von  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  mit Anisol (nach 122).

Anisol ist durch die zusätzliche Methylgruppe am Sauerstoff für einen elektrophilen Angriff am Aromaten etwas weniger aktiviert, ist jedoch bei Raumtemperatur flüssig und ließ sich deshalb unverdünnt im automatisierten Prozess in die Elektrosyntheseeinheit überführen. Das Elektrosyntheseprotokoll wurde entsprechend angepasst. Unmittelbar nach der Elektrosynthese wurde das Rohprodukt mit Anisol für 15 min bei 80 °C im spannungslosen Elektrosynthesereaktor erhitzt. Nach Entfernung der ionischen Bestandteile, insbesondere des überschüssigen [<sup>18</sup>F]Fluorids mittels Kieselgelkartusche, wurde ein Aliquot zur Radio-HPLC-Analyse entnommen.

Das Chromatogramm zeigt nach dieser Synthese neben den zwischen 0 und 15 min auftretenden Radioaktivsignalen auch ein schwaches Signal im Bereich von 20 bis 25 min, welches somit in den Bereich der fluorierten Anisolderivate fällt (vgl. Abbildung 6.13). Die Ko-Elution mit dem Standard 4-[<sup>19</sup>F]Fluoranisol macht deutlich, dass es sich bei der Komponente um die entsprechende <sup>18</sup>F-fluorierte Verbindung handeln könnte (vgl. Abbildung 20).

Das Chromatogramm in Abbildung 6.13 im Anhang zeigt auch nach Extraktion mittels Chloroform ein qualitativ ähnliches Produktspektrum auf und belegt damit die Reproduzierbarkeit der Synthese. Außerdem wird somit nachgewiesen, dass es sich bei dem beobachteten Radioaktivprodukt im Bereich zwischen 20 und 25 min nicht um ein Artefakt vorangegangener Radio-HPLC-Messungen handeln kann.

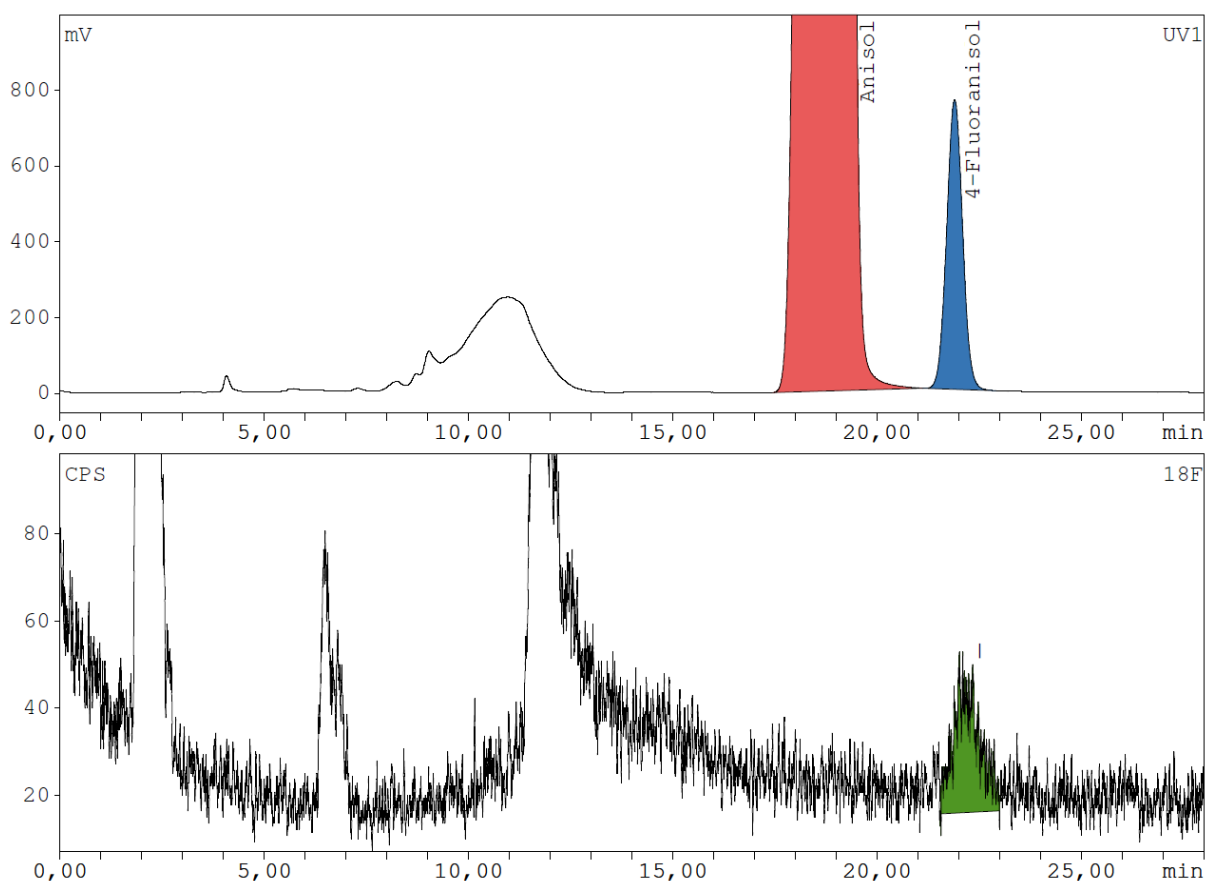


Abbildung 20: UV-Chromatogramm (oben) und Radioaktivitäts-Chromatogramm (unten) der Radio-HPLC-Messung nach Elektrosynthese von  $\text{Tf}_2\text{N}-[^{18}\text{F}]\text{F}$  und anschließender Monitorsynthese mit Anisol (HPLC-System 1, Methode 2).

Bei Anwendung semipräparativer HPLC-Trennungen können die stationären Phasen mit einer größeren Menge des Analyten beladen werden, ohne dass es sich negativ auf das Trennverhalten des Säulenmaterials auswirkt. Der Säulendurchmesser ist gegenüber den analytischen HPLC-Säulen um mehr als das zweifache vergrößert und ermöglicht somit eine indirekte Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses durch Analyse größerer Probenmengen. Es bestünde auch die Möglichkeit, die Startaktivität um das bis zu vierfache zu erhöhen. Durch Verwendung eines semipräparativen oder präparativen Trennverfahrens lässt sich jedoch das Injektionsvolumen des Analyten um das fünfzigfache erhöhen, was verglichen mit einer höheren Startaktivität einen wesentlich positiveren Einfluss auf das Signal-Rausch-Verhältnis zur Folge hat.

Für die effektive Trennung der unpolaren Produkte von den polaren Nebenprodukten wurde das gesamte Produktgemisch zunächst mit etwas Wasser versetzt und anschließend mit Chloroform extrahiert. Nach Trocknen über Natriumsulfat und

kurzem Eindampfen wurde das Extrakt mittels semipräparativer Radio-HPLC untersucht. Entgegen der Erwartung konnte das Produktspektrum nicht ausreichend von polarerer Nebenprodukten befreit werden. Es zeigt sich weiterhin reproduzierbar ein Radioaktivprodukt mit einem niedrigen Signal-Rausch-Verhältnis im Retentionsbereich der Fluoranisole (vgl. Abbildung 6.14 und 6.15 im Anhang).

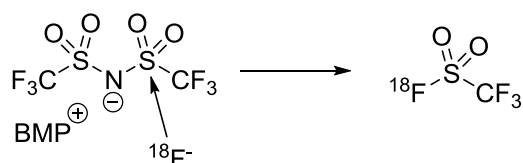
Zusammenfassend konnte die semipräparative Radio-HPLC Untersuchung keine Verbesserung der Signalintensität erbringen, jedoch bestätigt sie erneut die Untersuchungsergebnisse aus vorangegangenen Synthesen. Die geringen Produktmengen der Radioaktivkomponente machen einen zweifelsfreien Nachweis weiterhin schwierig.

### ***Vergleich der Produktspektren aus den indirekten Nachweismethoden und weiterführende Untersuchungen***

Zum Vergleich der bei den Synthesen entstehenden Radioaktivprodukte bietet sich eine Gegenüberstellung der Chromatogramme der Synthesen mit Phenol und Anisol als Testsubstanzen für den Nachweis des Fluorierungsreagenzes an. Die Radioaktivitäts-Chromatogramme der HPLC-Analysen weisen ein sehr ähnliches Produktspektrum auf (vgl. Abbildung 6.16 und 6.17). Besonders charakteristisch ist das Signal zwischen 11 und 13 min. Es wird nur beobachtet, wenn eine Monitorsynthese stattgefunden hat, nicht aber, wenn das Produktgemisch nach einer Elektrosynthese ohne weitere Verfahrensschritte untersucht wird (vgl. Abbildung 6.18, unten). Im letzten Fall entsteht ein sehr übersichtliches Spektrum, das mit dem in Abbildung 16 (vgl. Kapitel 3.1.4) weitgehend übereinstimmt.

Das charakteristische Nebenprodukt ließ sich unmittelbar nach der Elektrosynthese noch nicht beobachten. Möglicherweise wurden durch die erhöhte Reaktions-temperatur während der Monitorsynthese, die zusätzlichen Chemikalien (Anisol und Phenol/MeCN), sowie deren längere Verweildauer in der Elektrosynthese-einheit neue Produkte gebildet. Eventuell wurden auch Produkte aus dem Reaktor gespült, die sonst nach der Elektrosynthese ohne die anschließende Monitorreaktion in diesem verbleiben. Eine mögliche nukleophile Konkurrenzreaktion stellt die Substitution des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids an die positiv polarisierte Sulfonylfunktion des Anions der ionischen Flüssigkeit  $\text{Tf}_2\text{N}^-$  dar. Auf diese Weise könnte Trifluormethylsulfonyl-[ $^{18}\text{F}$ ]fluorid entstehen, ähnlich wie bei bereits bekannten Sulfonylfluoriden, die als prosthetische Gruppe eingesetzt werden (vgl. Schema 35).<sup>220</sup>





Schema 35: Mögliche nukleophile Konkurrenzreaktion von  $\text{Tf}_2\text{N}^-$  mit  $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$ .

Bei Wiederholung der Elektrosyntheseprozedur ohne das Anlegen einer Spannung und ohne anschließende Monitorsynthese kam die ionische Flüssigkeit für 8 min in Kontakt mit der Elektrode, auf der zuvor das  $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$  interkaliert wurde. Nach Entfernen der ionischen Flüssigkeit aus dem Reaktor, ohne Transfer über die Kieselgelkartusche, wurde darin lediglich  $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$  mittels Radio-HPLC gemessen (vgl. Abbildung 6.18, oben). Dieses kann nachträglich quantitativ mittels Kieselgelkartusche entfernt werden, sodass keine Radioaktivprodukte mehr zu messen waren.

Wird eine Elektrosynthese ohne anschließende Monitorsynthese durchgeführt, so zeigt sich, wie in Abbildung 16 schon zu sehen, ein Radioaktivsignal bei 6,5 min (vgl. Abbildung 6.18, unten). Damit stammen möglicherweise auch die entsprechenden Signale in Abbildung 6.16 und 6.17 (vgl. Anhang) schon aus der vorangegangenen Elektrosynthese. Der Ursprung des Signals mit Retentionszeiten zwischen 11 und 13 min kann auf diese Weise jedoch nicht erklärt werden.

Weiterhin wurde der Einfluss des Kations der ionischen Flüssigkeit am entstandenen Produktspektrum untersucht. Dafür wurde lediglich das Kation der ionischen Flüssigkeit variiert, und nach Elektrosynthese unter gleichen Bedingungen wie mit  $\text{BMPTf}_2\text{N}$  eine Monitorsynthese in Anwesenheit von Anisol durchgeführt.

Beide Versuche zeigen nach semipräparativer Abtrennung nur Produkte mit niedrigem Retentionsvermögen, jedoch kein Radioaktivsignal im Bereich der Retentionszeit radiofluorierter Anisolderivate. Die Produktspektren unterscheiden sich auffallend von den bisherigen Beispielen. Bei Anwesenheit des Trioctylmethylammonium (TOMA) als Kation der ionischen Flüssigkeit  $\text{TOMATf}_2\text{N}$  wird nur ein Signal bei etwa 3 min beobachtet (vgl. Abbildung 6.19). Die Verwendung von 1-Allyl-3-methylimidazolium (AMI) als Kation (vgl. Abbildung 6.20) liefert zwei aufeinanderfolgende Produkte bei 3 und bei 6 min Retention.

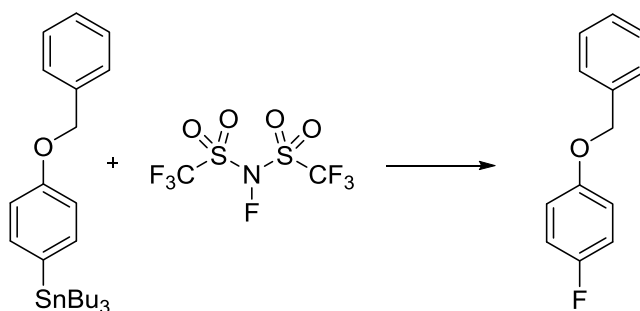
Bei diesen Änderungen im Produktspektrum kann davon ausgegangen werden, dass es sich auch bei dem vorher erwähnten Signal bei 11 min bezüglich der Elektro-

synthese mit  $\text{BMPTf}_2\text{N}$  um ein Produkt handelt, das direkt mit einem Kation der ionischen Flüssigkeit in Verbindung gebracht werden kann.

Zusammenfassend führt die Verwendung einer modifizierten IL nicht zur Bildung eines Radioaktivproduktes, das sich mit fluorierten Anisolderivaten koeluieren lässt. In Zukunft können zur Aufklärung des Nebenproduktspektrums weitere ionische Flüssigkeiten getestet werden, über die sich Aussagen zur Rolle des Kations bei der Elektrosynthese treffen lassen. Als potentielle Edukte würden sich beispielsweise  $\text{Ba}(\text{Tf}_2\text{N})_2$  oder  $\text{MeOct}_3\text{N}(\text{Tf}_2\text{N})$  eignen, die keine  $\text{sp}^2$ -hybridisierten Kohlenstoffatome enthalten, welche einer anodischen Oxidation gegenüber empfindlicher sind als  $\text{sp}^3$ -hybridisierte Kohlenstoffatome. Sie sind daher möglicherweise besser als Edukt für eine Elektrosynthese einsetzbar.

#### **Nachweis mittels (4-Benzyloxyphenyl)tributylstannan**

Da die präparative Synthese des  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  mit Anisol ohne die Verwendung eines Lösungsmittels zu einem Produktgemisch aus *ortho*- und *para*-Fluoranisol führt, könnte ein Ansatz zur regioselektiven Fluorierung eines aktivierten Aromaten mit entsprechender Abgangsgruppe den Produktnachweis unterstützen (vgl. Schema 36).



Schema 36: Reaktion von  $\text{Tf}_2\text{N-F}$  mit (4-Benzyloxyphenyl)tributylstannan.

Zur Untersuchung dieser Hypothese, wurde das Elektrosyntheseprodukt für 15 min mit (4-Benzyloxyphenyl)tributylstannan umgesetzt. Das entsprechend fluorierte Produkt 4-Benzyloxy-1- $^{18}\text{F}$ fluorbenzen konnte mit geeigneten Verfahren jedoch nicht nachgewiesen werden (vgl. Abbildung 6.21 und 6.22). Bislang liefern also nur die Nachweisverfahren mit Anisol und Phenol ein Produkt, dass möglicherweise auf die Existenz des Fluorierungsreagenz  $\text{Tf}_2\text{N-}^{18}\text{F}$  schließen lässt.

### 3.1.6 Zusammenfassung der Ergebnisse zur Untersuchung der Elektrosynthese von elektrophilen $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzien

Durch die Überführung von nukleophilem  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid in ein elektrophiles  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenz öffnen sich neue Synthesestrategien für die trägerarme Darstellung radiofluorierter Arzneimittel. Aus diesem Grund wurde ein elektrochemisches Verfahren auf der Basis einer etablierten Elektrosyntheseeinheit untersucht.

Als Edukt eignet sich insbesondere die ionische Flüssigkeit (IL) 1-Butyl-1-methylpyrrolidiniumbis(trifluormethylsulfonyl)imid (BMPTf<sub>2</sub>N). Sie bietet mit idealen physikochemischen Eigenschaften die Möglichkeit, auf ein separates Leitsalz und ein Lösungsmittel zu verzichten. Anhand cyclovoltammetrischer Messungen konnte gezeigt werden, dass die elektrokatalytische Ko-Oxidation von  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid und Tf<sub>2</sub>N<sup>-</sup>, dem Anion der ionischen Flüssigkeit, in den Potentialgrenzen der IL prinzipiell möglich ist. Aus diesem Grund wurde eine elektrochemische Produktionsroute zur Darstellung von *N*- $[^{18}\text{F}]$ Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid (Tf<sub>2</sub>N- $[^{18}\text{F}]$ F) untersucht.

Auf der Basis der Cyclovoltammetrie-Ergebnisse erfolgten anschließende Elektrosyntheseversuche an einer Sigradur<sup>®</sup>G-Elektrode in einer automatisierten Syntheseparatur. Nach der Interkallation des n.c.a.  $[^{18}\text{F}]$ Fluorids aus der wässrigen Targetlösung und Trocknung der Zelle wurde die reine ionische Flüssigkeit in die Elektrosyntheseeinheit überführt und bei 6-8 V umgesetzt. Dabei sollten die Anionen  $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$  und Tf<sub>2</sub>N<sup>-</sup> nach anodischer Ko-Oxidation an der Elektrodenoberfläche zum elektrophilen Fluorierungsreagenz Tf<sub>2</sub>N- $[^{18}\text{F}]$ F rekombinieren.

Die folgende Radio-HPLC-Analyse signalisiert reproduzierbar ein radioaktives Fluororganisches Produkt, welches sich mit einem ähnlich lipophilen Fluorierungsreagenz koeluieren ließ. Der über die direkte Fluorierung mit elementarem Fluor hergestellte  $^{19}\text{F}$ -Standard Tf<sub>2</sub>N-F hydrolysiert im HPLC-Laufmittel, sodass ein direkter Nachweis mittels Radio-HPLC ausgeschlossen war. Auch Radio-GC und Radio-DC konnten nicht zum Nachweis des Produktes dienen, sodass ein indirektes Nachweisverfahren entwickelt wurde, bei dem das elektrophile  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenz direkt im Anschluss an die Elektrosynthese mit einem Molekül umgesetzt wurde. Insbesondere Phenol und Anisol sind sowohl gut nachweisbar als auch sensitiv für den elektrophilen Angriff durch das  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenz, sodass diese Methode speziell den Nachweis geringster Mengen des Fluorierungsreagenzes ermöglicht.

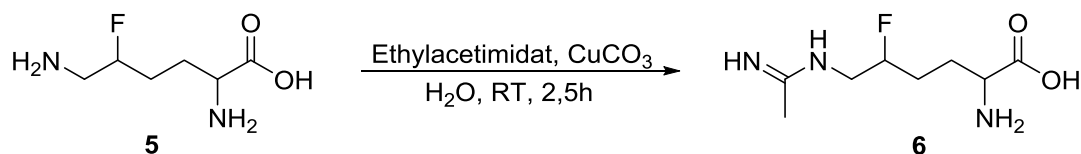
Die Untersuchungen der Umsetzung mit Phenol und Anisol nach der Elektrosynthese zu den entsprechend  $^{18}\text{F}$ -fluorierten Derivaten zeigen reproduzierbar, dass sich ein organisches Radioaktivprodukt in geringsten Mengen mit den Referenzsubstanzen chromatographisch koeluieren lässt. Trotz der geringen Signal-Rausch-Verhältnisse und der damit verbundenen nur schwach belastbaren Identifizierung, kann davon ausgegangen werden, dass die prinzipielle Machbarkeit der elektrochemischen Darstellung eines trägerarmen  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzes ausgehend von n.c.a.  $^{18}\text{F}$ Fluorid untermauert wurde. Für eine effiziente elektrophile Radiofluorierung eignete sich dieses Verfahren jedoch nicht, sodass für die Darstellung  $^{18}\text{F}$ -markierter NO-Synthase-Inhibitoren etablierte Markierungsmethoden verwendet wurden. Außerdem waren auch aliphatische Verbindungen attraktiv. Dies induziert klassische Markierungsmethoden wie im Fall des folgenden Lysinderivats.

### **3.2 Synthese $^{18}\text{F}$ -markierter NOS-Inhibitoren auf der Basis von 5- $^{18}\text{F}$ Fluorlysin**

Für das Studium der NO-Synthase-Aktivität mithilfe der Positronen-Emissions-Tomographie und für die zukünftige Entwicklung potentieller Therapeutika zur Behandlung von neuronalen und entzündlich-infektiösen Erkrankungen ist die Entwicklung  $^{18}\text{F}$ -markierter NOS-Inhibitoren von großem Interesse. Wie bereits in Kapitel 1.4 erwähnt, zählen die auf der Aminosäure Lysin aufbauenden NOS-Inhibitoren zur ersten Generation der Substrat-basierten Inhibitoren. Durch ihre Strukturverwandtschaft mit den Aminosäuren haben diese NOS-Liganden gegenüber den Peptid-basierten Verbindungen häufig den Vorteil einer erhöhten Blut-Hirn-Schranken-Permeabilität. Trotz der vergleichsweise niedrigen Isoform-Selektivitäten stellt der Zugang zu entsprechenden Aminosäuretransportern sowie der damit verbundene potentielle Einsatz Lysin-basierter und  $^{18}\text{F}$ -markierter NOS-Liganden zur Untersuchung der Enzymaktivität im Hirn eine Voraussetzung für die Entwicklung einer Radiosynthese zur Darstellung des iNOS Inhibitors (5S)-5- $^{18}\text{F}$ Fluor-N6-imino-ethyl-L-Lysin dar.

Das hier zur Darstellung des Diastereomerengemisches dieser Verbindung zunächst verfolgte Konzept geht von kommerziell erhältlichem 5-Hydroxylysin aus und hat die

Übertragung der bereits publizierten (vgl. Schema 37) Iminoethylierung auf ein radiochemisches Synthesekonzept zum Ziel.



Schema 37: Darstellung von 5-Fluor-N6-iminoethyllysine ausgehend von 5-Fluorlysine (nach 173).

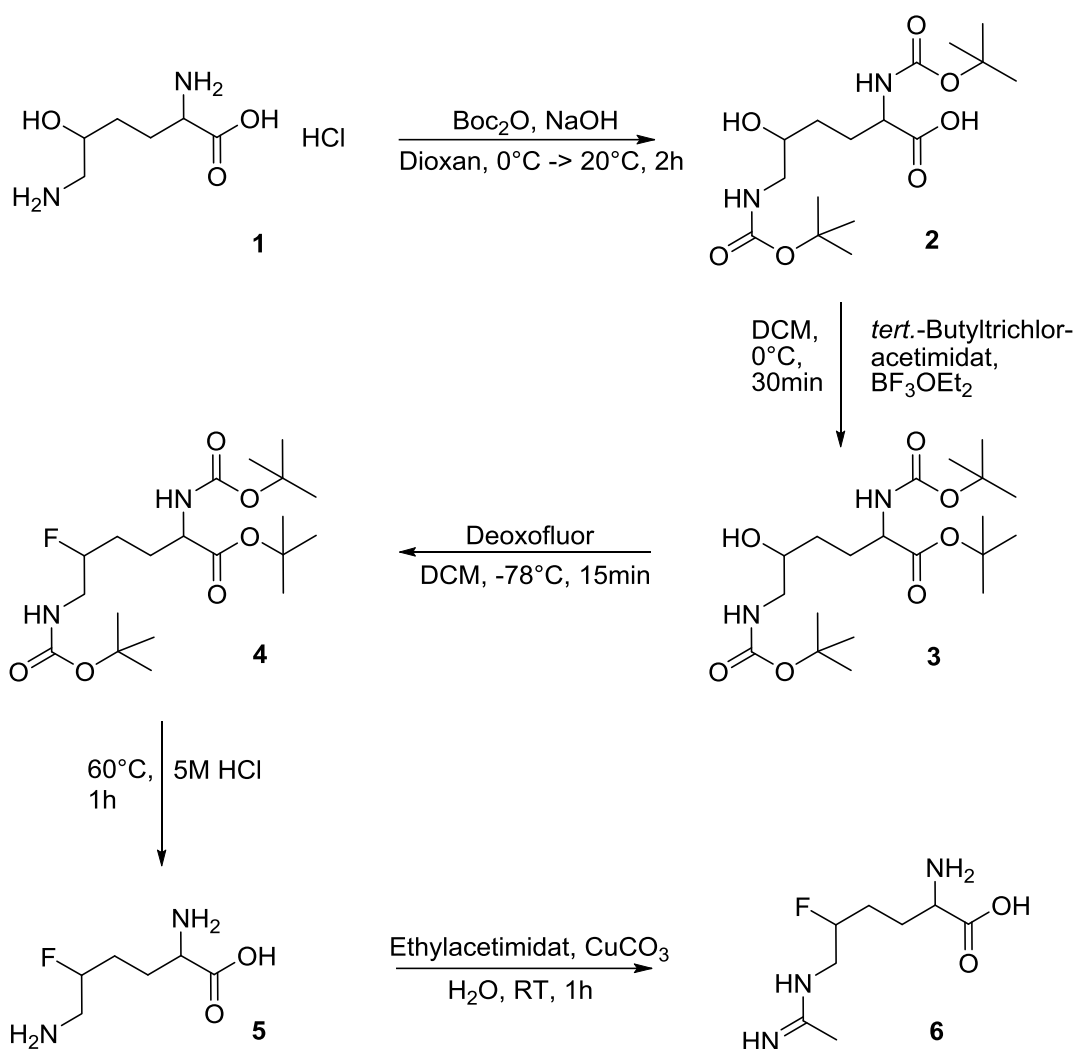
Ausgehend vom 5- $^{18}\text{F}$ Fluorlysine [ $^{18}\text{F}$ ]**5** sollte die Derivatisierung am terminalen Amin nach Kupferkomplexierung des Aminosäureterminus zur Bildung des  $^{18}\text{F}$ -markierten iNOS-Inhibitors [ $^{18}\text{F}$ ]**6** führen. Zur Analogmarkierung der in Schema 37 vorgestellten Lysinverbindung bietet sich eine aliphatische Markierungsmethode mit n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid und einem Sulfonat als Abgangsgruppe eines Lysinvorläufers an. Die Analogmarkierung von **5** erfordert die Einführung von Schutzgruppen sowohl am terminalen Amin als auch an der Aminosäurefunktion. Die angestrebte Schutzgruppenstrategie sollte hinsichtlich der Radiosynthese die quantitative Entfernung aller Schutzgruppen in einem Syntheseschritt ermöglichen. Eine oft verwendete Schutzgruppe für Amine ist die *tert.*-Butoxycarbonyl (Boc)-Schutzgruppe. Sie lässt sich im neutralen Medium in ein Molekül einfügen, toleriert basische Bedingungen und lässt sich sauer entfernen.<sup>221</sup> Ähnliches gilt für die *tert.*-Butyl-Schutzgruppe, die zur Maskierung des aziden Protons die Carboxylfunktion in Form des *tert.*-Butylesters schützt.

Mit der folgenden Synthesestrategie wird sowohl die Darstellung des Markierungsvorläufers als auch die der verschiedenen Referenzverbindungen ausgehend von kommerziell erhältlichem 5-Hydroxylysin gezeigt. Außerdem wäre diese Syntheseroute übertragbar auf die Darstellung der stereoisomerenreinen Verbindungen.

### 3.2.1 Darstellung der Referenzverbindungen

Ausgehend von 5-Hydroxylysin **1** (vgl. Schema 38), welches als Hydrochlorid auch im Hinblick auf die spätere Synthese zum optisch reinen (2S,5S)-Isomer in Form der stereoisomerenreinen Ausgangsverbindung kommerziell erhältlich ist, wurde zunächst nach einer von Dykes et al. modifizierten Synthesevorschrift<sup>222</sup> das doppelt Boc-geschützte Derivat **2** hergestellt. Nach der Einführung dieser Schutzgruppen am  $\alpha$ - und am terminalen  $\epsilon$ -Amin wurde auch die Carbonsäurefunktion nach Armstrong

et al.<sup>223</sup> in Anwesenheit von 2 Äquivalenten *tert.*-Butyltrichloracetimidat mit einer *tert.*-Butyl-Schutzgruppe verknüpft und anschließend säulenchromatographisch gereinigt. Wegen der nicht ausreichenden Reaktivitätsunterschiede zwischen der Carbonsäurefunktion und der Hydroxyfunktion in der 5-Position entstand neben dem gewünschten Hydroxylysinderivat im Verhältnis 3:1 auch ein an der Hydroxyfunktion *tert.*-butyliertes Produkt, das sich jedoch nach Hydrolyse wieder zum 5-Hydroxylysin umsetzen ließ. Das Nebenprodukt wurde massenspektrometrisch nachgewiesen und nicht weiter charakterisiert. Mit einer Ausbeute von 48 % wurde das geschützte Hydroxylysinderivat **3** ausgehend von **1** erhalten und konnte sowohl zu den <sup>19</sup>F-Referenzverbindungen **4**, **5** und **6** (vgl. Schema 38) als auch zum Markierungsvorläufer **7** (vgl. Schema 39) funktionalisiert werden.



Schema 38: Synthese des iNOS-Inhibitors **6** als Referenzverbindung.

Nach einer modifizierten Prozedur von Lal et al. führte die Behandlung der Hydroxyverbindung **3** mit Deoxofluor bei  $-78^\circ\text{C}$  zum geschützten Fluorlysinderivat **4**.<sup>224</sup> Nach

einer Reaktionszeit von 15 min und anschließender chromatographischer Reinigung wurde das Produkt mit einer Ausbeute von 29 % erhalten. Verbindung **4** wurde so lange mit 5 M wässriger Salzsäure behandelt, bis eine homogene Lösung entstanden war und mittels DC keine unpolareren Zwischenprodukte mehr nachgewiesen werden konnten. Das Produkt **5** wurde aus Ethanol umkristallisiert und mit einer Ausbeute von 46 % erhalten. Neben der klassischen Synthese zu 5-Fluorlysin wurde dieser Prozess bereits durch *Tolman* et al. mit einer Ausbeute von 56 % beschrieben.<sup>225</sup> Die anschließende Umsetzung zu (5*RS*)-5-Fluor-N<sup>6</sup>-iminoethyl-DL-lysin **6** erfolgte nach *Plapp* et al. in wässriger Lösung aus Kupfer(II)carbonat und Ethylacetimidat bei Raumtemperatur.<sup>173,226</sup> Unter basischen Bedingungen wurde die Aminosäurefunktion mit dem Kupfer(II)-Kation komplexiert, was die chemoselektive Erweiterung des terminalen Amins zur Iminoethylfunktion ermöglicht. Das Produkt ließ sich effektiv nur mittels semipräparativer HPLC aufreinigen. Für die Analytik wurde ein Teil des chromatographisch gereinigten Produktes entnommen, zur Entfernung der Kupferkomplexierung mit H<sub>2</sub>S behandelt und nach Feinfiltration sowie fraktionierter Fällung spektroskopisch untersucht. Das danach gewonnene Produkt konnte direkt als Referenzsubstanz zur Methodenentwicklung für die potentielle Identifizierung des <sup>18</sup>F-markierten iNOS-Inhibitors verwendet werden.

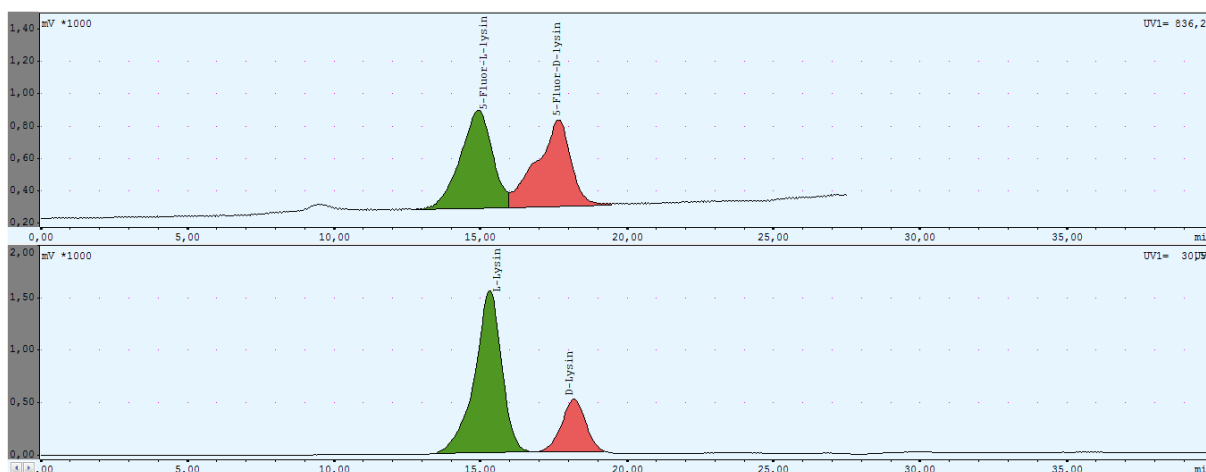


Abbildung 21: UV-Chromatogramme von (5*RS*)-5-Fluor-DL-Lysin und DL-Lysin nach der (System 1, Methode 6).

Die chromatographische Trennung der fluorierten Lysinderivate mittels chiraler HPLC ermöglicht die Unterscheidung des D- und des L-Isomers (vgl. Abbildung 21). Die Verwendung einer wässrigen CuSO<sub>4</sub>-Lösung als Laufmittel und die daraus resultierende Komplexierung der Aminosäure schuf die Voraussetzung für eine

zuverlässige UV-Detektion der ansonsten im betrachteten Wellenlängenbereich inaktiven Referenzverbindungen.

Die mittels HPLC bestimmten Kapazitätsfaktoren  $k'$  der L-konfigurierten Derivate von 5-Fluorlysin und Lysin unterscheiden sich nur um 0,05 Einheiten, entsprechend einer Retentionszeit von 0,4 min. Die Differenz der  $k'$ -Werte der D-konfigurierten Derivate liegt ebenfalls bei 0,05, was einen Unterschied in der Retentionszeit von 0,5 min entspricht. Aufgrund dieser hohen Übereinstimmung im Retentionsverhalten der betrachteten Verbindungen und der besseren Verfügbarkeit der nicht fluorierten Lysinderivate konnte für die Analytik der Radioaktivversuche in diesem Fall auf die Verwendung fluorierter Referenzverbindungen verzichtet werden.

Das Retentionsverhalten des iNOS-Inhibitors (5*RS*)-5-Fluor-N6-iminoethyl-DL-lysin wurde mit dem gleichen Verfahren getestet. Als interner Standard und zur Methodenkontrolle wurde L-Lysin koinjiziert (vgl. Abbildung 22).

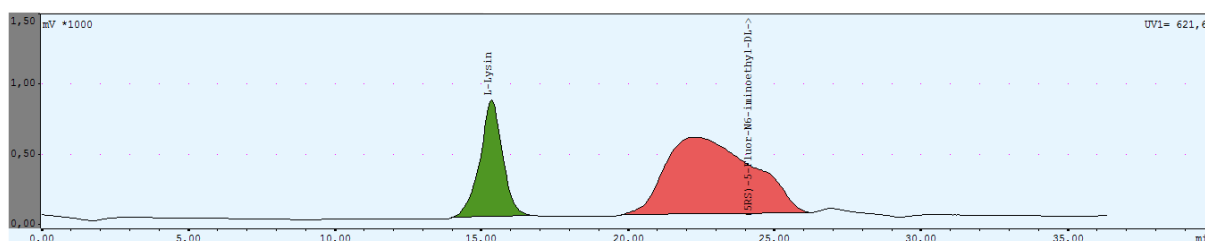


Abbildung 22: UV-Chromatogramm der HPLC-Trennung von L-Lysin und (5*RS*)-5-Fluor-N6-iminoethyl-DL-lysin (HPLC-System 1, Methode 6).

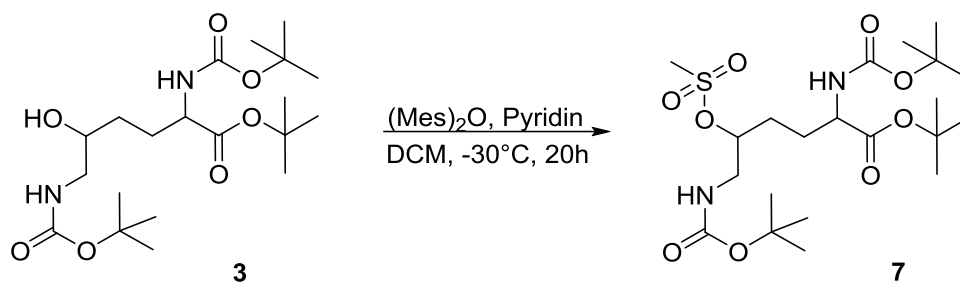
Die HPLC-Analyse der Fluoriminoethyllysinkomponente lieferte ein unbefriedigendes breites Signal mit geringer Peaksymmetrie. Zusätzlich wurde daher eine DC-Methode entwickelt. Mit einem Laufmittelgemisch aus Phenol, Ethanol und einer wässrigen 25 %-igen  $\text{NH}_3$ -Lösung (v/v/v 2:1:1) ließen sich 5-Fluorlysin und die korrespondierende iminoethylierte Verbindung ausreichend voneinander trennen.

Somit konnten die benötigten Referenzverbindungen erfolgreich hergestellt werden, mithilfe derer das Produktspektrum der folgenden Radioaktivversuche entschlüsselt und quantifiziert wurde.

### 3.2.2 Darstellung des Markierungsvorläufers

Ausgehend von dem Hydroxylysinderivat **3** wurde der Vorläufer **7** durch Mesylierung der Hydroxyfunktion mit Methansulfonsäureanhydrid in Dichlormethan bei  $-30\text{ }^\circ\text{C}$  nach 20 h mit einer Ausbeute von 66 % erhalten (vgl. Schema 39).



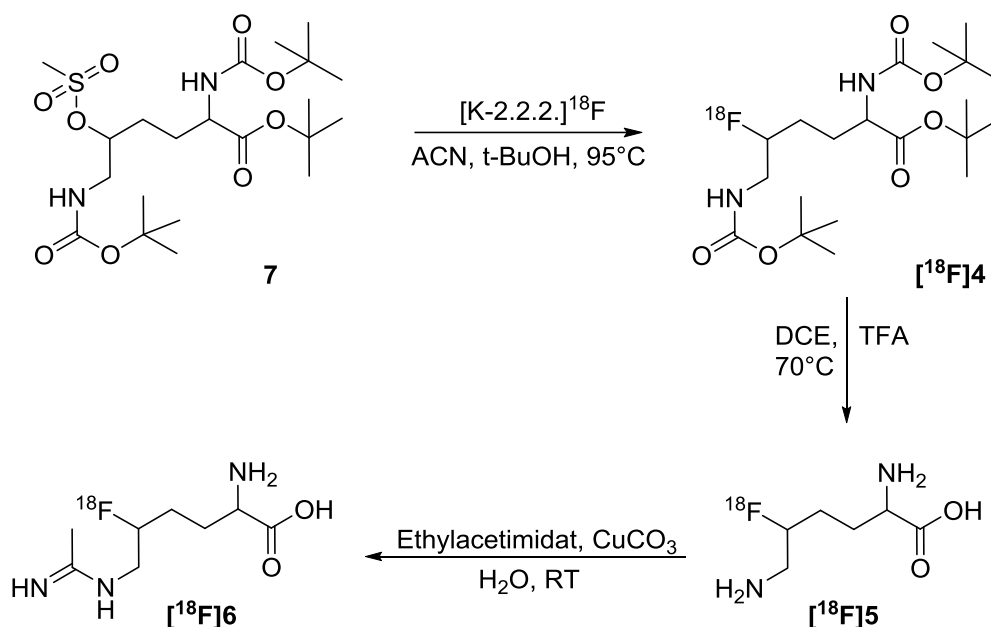


Schema 39: Synthese des Markierungsvorläufers **7**.

Zur Entfernung von Pyridinrückständen wurde die Produktlösung mit einer geringen Menge Essigsäure versetzt. Nach der weitgehenden Entfernung des Lösungsmittels ließ sich der Vorläufer in Pentan aufnehmen, wohingegen das Pyridiniumsalz durch Filtration entfernt wurde. Diese Syntheseroute lieferte den Markierungsvorläufer ausgehend vom 5-Hydroxylysin in drei Stufen mit einer Gesamtausbeute von 31 %.

### 3.2.3 Radiosynthesen

Die Radiosynthese des iNOS-Inhibitors erfolgte nach einem mehrstufigen Aufbauprozess. Aus Produktionsgründen fällt [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid in wässriger Lösung an. Es wurde nach elektrochemischer Aufreinigung und entsprechender Aktivierung (vgl. Kapitel 1.2) als Nukleophil eingesetzt.



Schema 40: Synthesekonzept zur Radiosynthese von (5*RS*)-5- $^{18}\text{F}$ Fluor-N6-iminoethyl-DL-lysin  $^{18}\text{F}$ **6**.

Aus dem Mesylatvorläufer **7** wurde zunächst in einem Gemisch von *tert.*-Butanol und Acetonitril (v/v 9:1) mit dem Aktivatorsystem aus Kryptofix® 2.2.2 und  $\text{K}_2\text{CO}_3$  das

$^{18}\text{F}$ -fluorierte Produkt **[ $^{18}\text{F}$ ]**4** hergestellt (vgl. Schema 40). Nach Entschützung mit Trifluoressigsäure (TFA) in Dichlorethan (DCE) bei 70 °C entstand das Diastereomerengemisch der vier Derivate von (5*RS*)-5- $^{18}\text{F}$ Fluor-DL-lysin **[ $^{18}\text{F}$ ]**5**. Der anschließende Transfer der Synthesebedingungen von *Plapp* et al. auf ein Radiosyntheseverfahren sollte die Derivatisierung der terminalen Aminofunktion zur gewünschten Zielverbindung (5*RS*)-5- $^{18}\text{F}$ Fluor-*N*6-iminoethyl-DL-lysin **[ $^{18}\text{F}$ ]**6** ermöglichen.<sup>173,226</sup> Die jeweiligen Syntheseschritte wurden im Einzelnen wie folgt optimiert.******

### Darstellung von (5*RS*)-5- $^{18}\text{F}$ Fluor-DL-lysin

Zur Untersuchung und Optimierung der nukleophilen Radiofluorierung wurden verschiedene Parameter wie Lösungsmittel, Aktivatorsystem, Vorläufermenge, Reaktionszeit und Temperatur variiert. Als geeignetes Lösungsmittel für die aliphatische Substitutionsreaktion mit  $^{18}\text{F}$ Fluorid erweist sich laut *Kim* et al.<sup>227</sup> ein *tert.*-Alkohol/Acetonitril-Gemisch. Die entstehende Alkalimetall-Fluorid-Bindung wird durch die ausgebildeten Wasserstoffbrücken geschwächt, was gleichzeitig die Nukleophilie des Fluorids erhöht. Durch die sterisch anspruchsvollen Alkylreste des *tert.*-Alkohols können die Wasserstoffbrücken zwischen Alkohol und Fluorid einen nukleophilen Angriff des Fluorids auf das Nukleofug nicht verhindern. Außerdem könnte die nukleophile Substitution durch eine potentielle Interaktion zwischen Sulfonat-Sauerstoffatomen und Alkohol-Protonen beschleunigt werden, weil somit die Abgangsgruppe das Molekül leichter verlassen kann.<sup>227,228</sup>

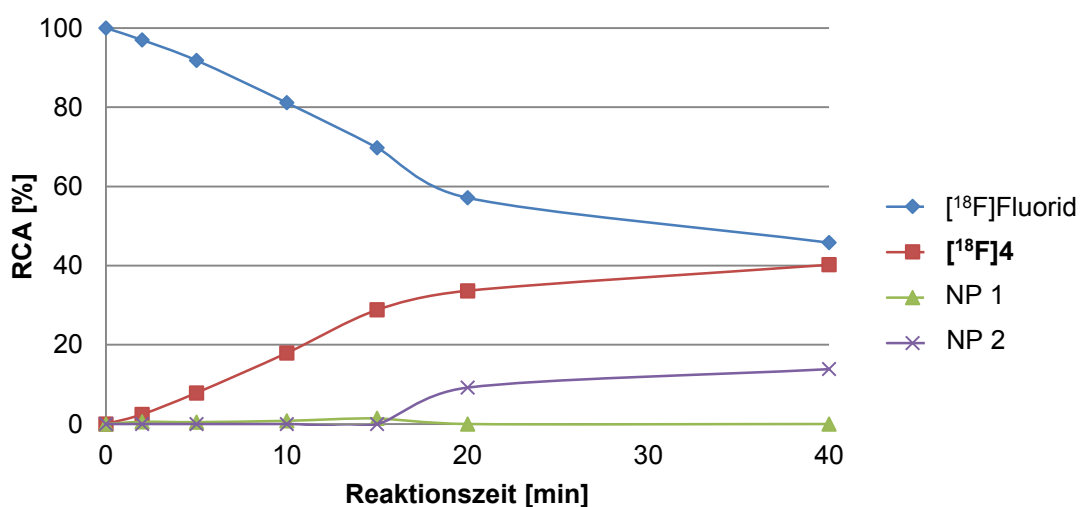


Abbildung 23: Einfluss der Reaktionszeit auf die radiochemische Ausbeute von **[ $^{18}\text{F}$ ]**4** mit dem Aktivatorsystem Kryptofix® 2.2.2 und  $\text{K}_2\text{CO}_3$  bei 95 °C.**

Für die folgenden Untersuchungen wurde daher ein *tert.*-Butanol/Acetonitril-Gemisch als Lösungsmittel gewählt. Erste Versuche mit einer Vorläufermenge von 5 mg in *tert.*-Butanol/Acetonitril bei 85 °C lieferten nach einer Reaktionszeit von 10 min laut DC-Analyse radiochemische Ausbeuten (RCA) um 15 %.

Die Erhöhung der Reaktionstemperatur um 10 °C wirkte sich positiv auf die radiochemische Ausbeute aus. Wie in Abbildung 23 und 24 zu sehen ist, wurden bei 95 °C Ausbeuten von über 40 % bei der nukleophilen Substitution erreicht. Nach einer Reaktionszeit von 20 min stieg der Umsatz zum gewünschten Produkt nur noch langsam an, sodass in die Radiosynthese nach dieser Zeit mit einer RCA von 33 % laut Radio-DC abgebrochen werden kann. Ursache für die sinkende Substitutionsgeschwindigkeit ist möglicherweise die Bildung eines konkurrierenden Nebenproduktes, das ab 20 min Reaktionszeit beobachtet wird (vgl. Abbildung 23 und 24, NP2).

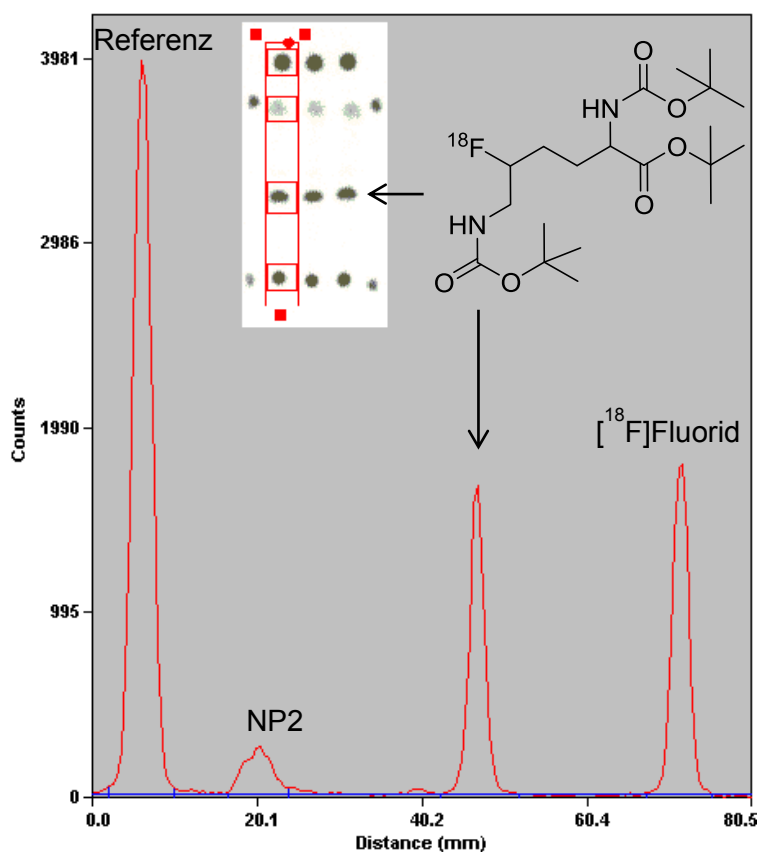


Abbildung 24: Radio-DC-Analyse der  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung von **7**;  $\gamma$ -Chromatogramm nach 40 min Reaktionszeit mit dem Aktivatorsystem Kryptofix<sup>®</sup> 2.2.2 und  $\text{K}_2\text{CO}_3$  bei 95 °C.

Die Nebenprodukte dieser Reaktion wurden nicht näher charakterisiert, könnten jedoch im weiteren Verlauf die Reaktion zum gewünschten Produkt beeinflussen, weshalb die folgenden Synthesen bei einer Reaktionszeit von 10 min durchgeführt

wurden. Diese Synthesedauer ist ein Kompromiss aus einer möglichst hohen RCA und einem möglichst niedrigen Anteil radioaktiver Nebenprodukte. Möglicherweise würde die Variation der zur Synthese verwendeten Reagenzien nach Anpassung der Reaktionstemperatur und der Synthesedauer zu weniger Nebenprodukten und einer höheren RCA führen. Ersten Erkenntnissen zufolge konnte jedoch z. B. bei Optimierungsversuchen mit dem Aktivatorsystem Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat (TBAHCO<sub>3</sub>) in DMF oder *tert.*-Butanol/Acetonitril bei variierender Reaktionszeit und Temperatur keine signifikante Steigerung der Radiofluorierungsausbeute erzielt werden. Diese Reaktionen lieferten Ausbeuten im unteren einstelligen Bereich und stellen somit keine Alternative zum o.g. Verfahren dar. Für die anschließende Weiterverarbeitung zu [<sup>18</sup>F]**5** und [<sup>18</sup>F]**6** wurde daher die Reaktion in *tert.*-Butanol und Acetonitril mit dem Aktivatorsystem Kryptofix® 2.2.2 und K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> bei einer Reaktionszeit von 10 min für ausreichend befunden.

Im Anschluss an die nukleophile Substitution erfolgte die saure Entschützung zu 5-(5*RS*)-5-[<sup>18</sup>F]Fluor-DL-lysin [<sup>18</sup>F]**5**. Dazu wurde in Anwesenheit von Trifluoressigsäure (TFA) das nach der Radiofluorierung eingedampfte Produkt in 1,2-Dichlorethan (DCE) erhitzt. Die Verwendung eines wässrigen Entschützungsreagenzes wie Salzsäure wurde im Hinblick auf die Derivatisierung zur Zielverbindung [<sup>18</sup>F]**6** vermieden, da sich das entstehende Produktgemisch nur langsam eindampfen lässt. Im Falle der hier verwendeten TFA/DCE-Mischung konnte überschüssiges Reagenz nach der Entschützung destillativ entfernt werden. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und mit LiOH-Lösung auf pH 9 titriert. Die auf diese Weise zur Verfügung gestellte Produktlösung diente anschließend als Basis für die Iminoethylierungsversuche. Die Radio-HPLC-Analyse der Produktlösung zeigte trotz der Verwendung einer chiralen Phase nur ein Produkt im Bereich der Lysinderivate (vgl. Abbildung 25).

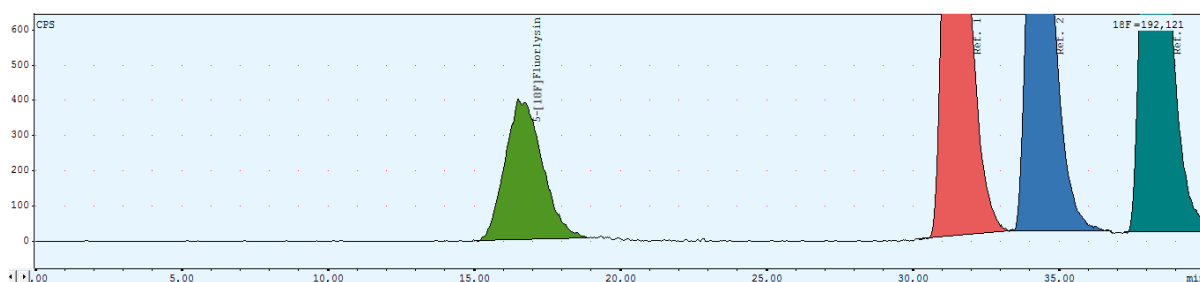


Abbildung 25: Radio-HPLC-Chromatogramm nach Entschützung von [<sup>18</sup>F]**4** zu [<sup>18</sup>F]**5** (HPLC-System 1, Methode 6).

Eine Trennung der D- und L-Isomere war erst nach der Aufnahme der Probe in ein Puffersystem aus Natriumphosphat und Phosphorsäure möglich. Dazu wurde das neutralisierte Produkt in einer Natriumphosphatlösung aufgenommen und mit Phosphorsäure auf pH 6-7 titriert.

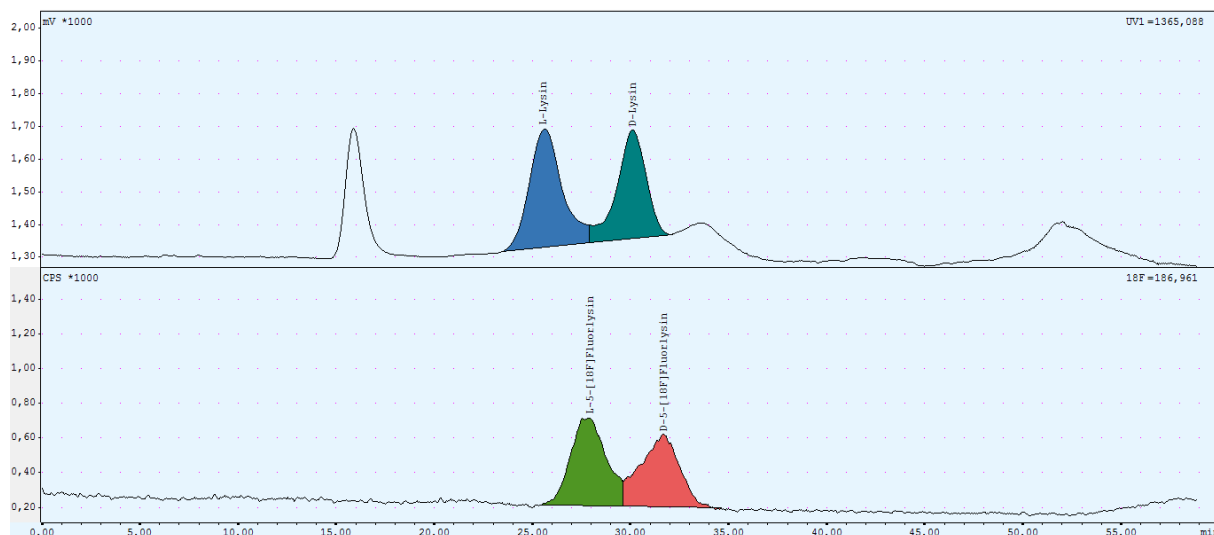


Abbildung 26: UV- und Radio-HPLC-Chromatogramm nach Entschützung von  $[^{18}\text{F}]\mathbf{4}$  zu  $[^{18}\text{F}]\mathbf{5}$  mit Phosphatpuffer; Koelution von D- und L-Lysin (HPLC-System 1, Methode 6).

Abbildung 26 zeigt das UV- und das Radiochromatogramm des entschützten Produktes. Analog zu der bei der Methodenentwicklung beobachteten Trennung können hier die D- und L-Isomere unterschieden werden. Zur zweifelsfreien Identifizierung der  $^{18}\text{F}$ -fluorierten Lysinderivate wurden entsprechende Referenzverbindungen koeluiert. In Übereinstimmung mit den Kapazitätsfaktoren und unter Berücksichtigung der Totzeit zwischen  $\gamma$ - und UV-Detektor kann eine erfolgreiche Synthese des 5- $[^{18}\text{F}]\text{Fluorlysins}$  festgestellt werden.

Die chromatographische Ausbeute für die trägerarme Darstellung des (5RS)-5- $[^{18}\text{F}]\text{Fluor-DL-lysine}$  ausgehend vom Mesylatvorläufer betrug ca. 31 % (vgl. Abbildung 27). Die radiochemische Gesamtausbeute errechnet sich aus der chromatographischen Ausbeute, bestimmt durch die HPLC-Messung, und der Gesamtmenge an isolierbarer Aktivität nach der Reaktion, bezogen auf die eingesetzte Aktivität nach der azeotropen Trocknung. Insgesamt ergab sich somit eine radiochemische Gesamtausbeute von ca. 10 %.

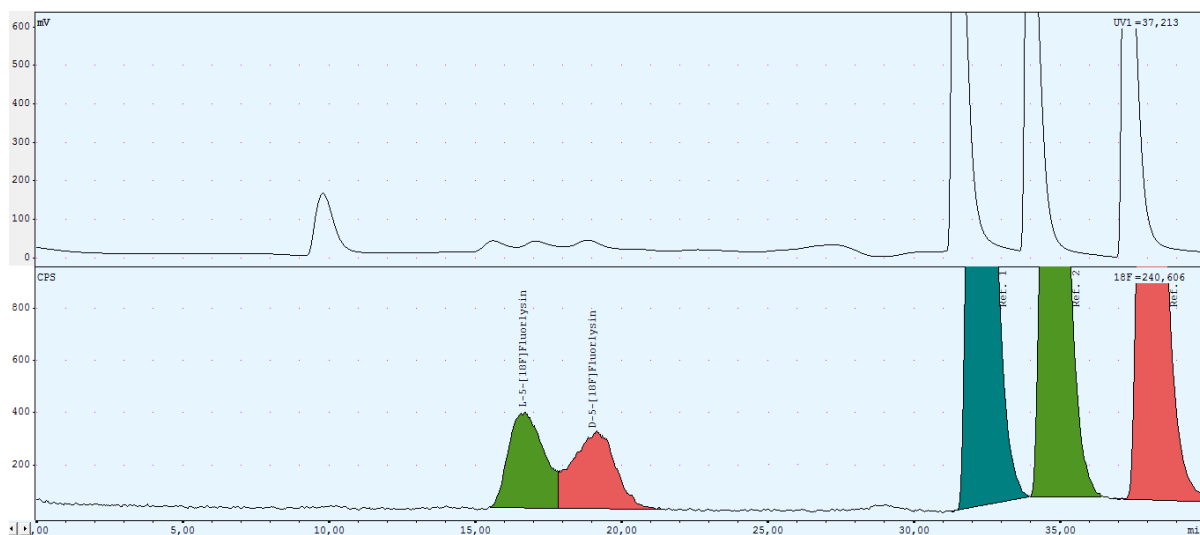


Abbildung 27: UV- und Radio-HPLC-Chromatogramm von 5-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorlysin [ $^{18}\text{F}$ ]5 (HPLC-System 1, Methode 6).

### Darstellung von (5RS)-5-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluor-N6-iminoethyl-DL-lysin

Basierend auf 5-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorlysin [ $^{18}\text{F}$ ]5 wurden zur Synthese des (5RS)-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluor-N6-iminoethyl-D,L-lysin [ $^{18}\text{F}$ ]6  $\text{CuCO}_3$  und anschließend Ethylacetimidathydrochlorid in die basische Produktlösung gegeben. Nach Kontrolle des pH-Wertes ( $\geq 9$ ) sollte nun die kupferkomplexierte Aminosäure über das terminale Amin nukleophil am Ethylacetimidat unter formaler Freisetzung von Ethanol angreifen. Bis zu einer maximalen Reaktionszeit von 40 min wurden in regelmäßigen Abständen Aliquots entnommen und mittels Radio-HPLC oder Radio-DC untersucht.

Nachdem die HPLC-Untersuchung des radioaktiven Produktspektrums keine eindeutigen Ergebnisse lieferte, wurden ergänzende DC-Messungen durchgeführt. Entsprechend des Retentionsfaktors  $R_f = 0,6$  der Zielverbindung wäre bei erfolgreicher Derivatisierung ein Radioaktivsignal oberhalb des Signals für das Edukt 5-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorlysins ( $R_f = 0,4$ ) zu erwarten. Die radioanalytischen Messungen lieferten jedoch auch nach der testweisen Erhöhung der Reaktionstemperatur von RT auf  $70^\circ\text{C}$  und nach der Variation des Kupfer-Gehaltes keinen Hinweis auf ein solches Produkt (vgl. Abbildung 28).

Ein möglicher Grund für das Fehlen eines entsprechenden Produktes kann das Überangebot an  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen im Vergleich zur mikroskopischen Stoffmenge des 5-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorlysins sein. Möglicherweise wird unter diesen Bedingungen das terminale Amin durch die Anwesenheit der Kupferionen für einen nukleophilen Angriff durch Komplexbildung deaktiviert. Vielleicht sind jedoch auch Verunreinigungen aus

vorherigen Syntheseschritten Grund für den fehlenden Umsatz zum gewünschten  $^{18}\text{F}$ -fluorierten iNOS-Inhibitor.

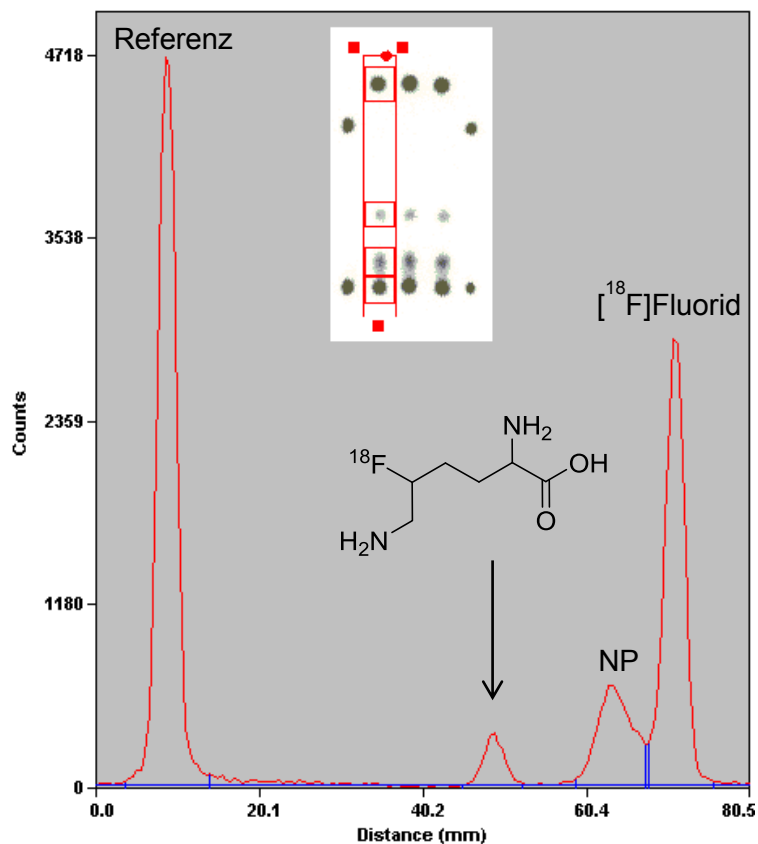


Abbildung 28: Radio-DC-Analyse nach dem Versuch der terminalen Derivatisierung von  $[^{18}\text{F}]\mathbf{5}$  zur Verbindung  $[^{18}\text{F}]\mathbf{6}$ . Charakteristisches  $\gamma$ -Chromatogramm nach 40 min Reaktionszeit mit 0,01 mmol  $\text{CuCO}_3$  und 0,2 mmol Ethylacetimidathydrochlorid bei RT.

### 3.2.4 Zusammenfassung der Untersuchungen zur Darstellung des iNOS Inhibitors (5S)-5- $[^{18}\text{F}]\text{Fluor-N6-iminoethyl-L-Lysin}$

Zur Untersuchung der Funktion der iNOS eignet sich möglicherweise die Verbindung (5S)-5-Fluor-N6-iminoethyl-L-lysin. Für die ersten Versuche zur radiochemischen Derivatisierung der terminalen Aminofunktion konnten ausgehend von einem Diastereomergemisch des 5-Hydroxylysins erfolgreich über eine kurze Syntheseroute sowohl die zur Identifizierung benötigten Referenzverbindungen als auch der Mesylatvorläufer hergestellt werden.

Bei der Radiofluorierung in einem Gemisch aus *tert.*-BuOH und Acetonitril (v/v 9:1) konnten bislang bei 85 °C mit dem Aktivatorsystem aus Kryptofix<sup>®</sup> 2.2.2 und Kaliumcarbonat nach 10 min eine radiochemische Ausbeute (RCA) um 15 % erreicht werden. Die darauffolgende Entschützung zu 5- $[^{18}\text{F}]\text{Fluorlysine}$  erzielt derzeit eine

gesamte radiochemische Ausbeute von ca. 10 %. Das Produkt konnte zweifelsfrei durch Koelution der kalten Standardverbindung nachgewiesen werden. Die Derivatisierung über den Kupferkomplex des 5-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorlysins zu (5*RS*)-5-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluor-*N*6-iminoethyl-DL-lysin gelang bisher auch nach Variation der Cu-Stoffmenge, der Reaktionszeit und der Reaktionstemperatur nicht. Dennoch kann der entwickelte Tracer 5-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorlysin alternativ für präklinische Studien zur Untersuchung des Proteinstoffwechsels zu Verfügung gestellt werden.

### 3.3 Radiosynthese des iNOS-Inhibitors 6-(2-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorpropyl)-4-methylpyridin-2-amin

Als potentielle Alternative zum Lysin-basierten iNOS-Inhibitor zeigte bereits der  $^{18}\text{F}$ -markierte iNOS-Tracer von Zhou et al. vielversprechende Ergebnisse nach *in vivo* PET-Studien.<sup>196</sup> Das 6-(2-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorpropyl)-4-methylpyridin-2-amin [ $^{18}\text{F}$ ]**18** (vgl. Abbildung 29) lieferte wie eingangs erwähnt auch hinsichtlich seiner Selektivität gegenüber der eNOS und der nNOS zufriedenstellende Ergebnisse.

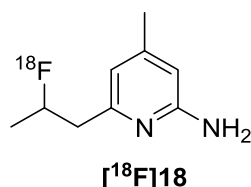


Abbildung 29: Der iNOS-Tracer 6-(2-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorpropyl)-4-methylpyridin-2-amin (aus 196).

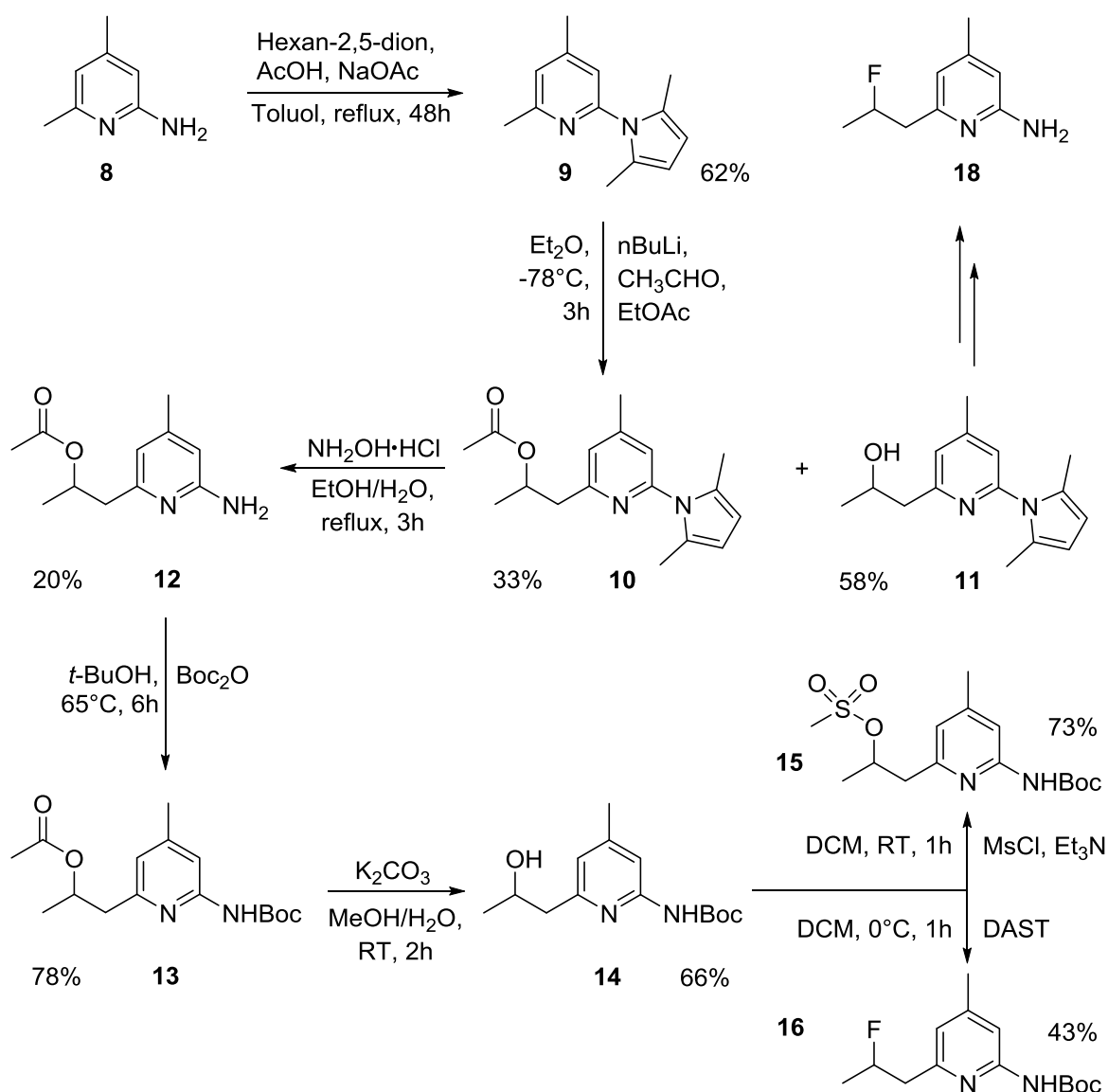
Die Radiosynthese dieser Verbindung erforderte jedoch wegen der geringen radiochemischen Ausbeute von 6 % eine hohe Startaktivität und war mit einem hohen apparativen Aufwand verbunden. Auf diese Weise wurde bislang ein routinemäßiger Einsatz maßgeblich limitiert.

Eine zuverlässige und effektive Radiosynthese des  $^{18}\text{F}$ -markierten iNOS-Inhibitors würde zusammen mit einem radiofluorierten nNOS-Inhibitor den Vergleich der iNOS- und der nNOS-Aktivität erheblich erleichtern. Daher sollte im Rahmen dieser Arbeit und einer tutorierten Masterarbeit<sup>229</sup> die Synthese des bereits bestehenden iNOS-Tracers [ $^{18}\text{F}$ ]**18** optimiert werden.



### 3.3.1 Darstellung des Markierungsvorläufers

Zur Optimierung und Automatisierung der Radiosynthese von **[<sup>18</sup>F]18** wurde der bereits beschriebene Markierungsvorläufer 1-(6-((*tert.*-Butoxycarbonyl)amino)-4-methylpyridin-2-yl)propan-2-yl-methansulfonat (**15**) verwendet.<sup>229</sup> Die Darstellung dieses Mesylatvorläufers erfolgte analog zur Publikation von *Zhou et al.* und ist im folgenden Syntheschema 41 dargestellt.<sup>196</sup> Die vorgestellte Vorläuferverbindung trägt als Abgangsgruppe eine Mesylatfunktion an einem aliphatischen Kohlenstoffatom, wodurch die Radiofluorierung in Form einer nukleophilen Substitution mit n.c.a. [<sup>18</sup>F]Fluorid erfolgen konnte. [<sup>18</sup>F]Fluorid fällt aus Produktionsgründen in wässriger Lösung an und wurde hier nach elektrochemischer Aufreinigung (vgl. Kapitel 1.2) als Nukleophil eingesetzt.



*Schema 41: Synthesekonzept zur Darstellung des Markierungsvorläufers 15, und der Referenzverbindungen 16 und 18 (nach 196).*

Ausgehend von 4,6-Dimethyl-2-aminopyridin **8** wurde die Aminofunktion zunächst durch eine *Paal-Knorr*-Reaktion in Form einer 2,5-Dimethylpyrrol-Gruppe geschützt. Diese Schutzgruppe gewährleistet exzellente Stabilität gegenüber starken Basen und guten Nukleophilen (z.B. n-BuLi, R-Mg-Hal) und erhöht gleichzeitig durch ihre elektronenschiebenden Eigenschaften das Komplexierungsvermögen des Pyridin-Stickstoffes hinsichtlich der anschließenden Lithiierung.<sup>230,231</sup> Die Schützung verlief mit einer Ausbeute von 62 %. Die gegenüber der Literaturangabe um 23 % niedrigere Ausbeute der Verbindung **9** hing vermutlich mit der aufwendigen chromatographischen Aufreinigung des Rohproduktes zusammen. Für die Folge-reaktion musste das überschüssige Edukt Acetonylacetone vollständig entfernt werden, was mittels NMR-überprüft wurde.

Die Regioselektivität der folgenden Deprotonierung der Methylfunktion in *ortho*-Position zum aromatischen Stickstoff wurde wie erwähnt durch den positiven induktiven Effekt der Schutzgruppe verstärkt. Die darauffolgende C-C-Bindungs-knüpfung und Umsetzung mit Acetaldehyd lieferte zunächst ein sekundäres Li-Alkoholat, welches *in situ* mit Ethylacetat als Ester geschützt wurde. Dabei entstand, vermutlich durch nicht ausreichend trockenes Ethylacetat bei der Umesterung vom Ethyl- zum Pyrrolpyridylpropylester, neben dem gewünschten Acetyl-geschützten Derivat **10** (33 %) auch der sekundäre Alkohol **11** (58 %) durch Hydrolyse des Li-Alkoholats.

Acetyl-Schutzgruppen sind gegenüber neutralen und leicht sauren Reaktionsbedingungen weitgehend stabil und lassen sich mit Basen entfernen. In der Synthesevorschrift wurde daher bei der Abspaltung der Pyrrol-Schutzgruppe mit amphoterem Hydroxylaminhydrochlorid auf den Zusatz der üblichen Mengen an Base verzichtet. Das Pyrrol-entschützte Derivat **12** konnte vermutlich bedingt durch unerwünschte Nebenreaktionen oder die aufwendige Reinigung nur in Ausbeuten um 20 % erhalten werden (Lit.: 55 %).

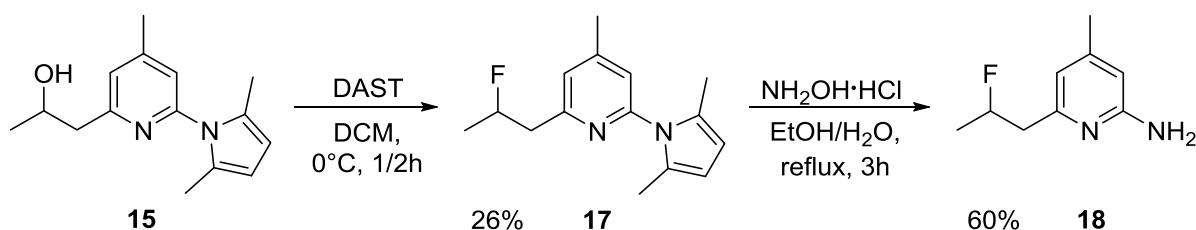
Die im nächsten Syntheseschritt eingeführte Boc-Schutzgruppe ermöglichte später die leichte und schnelle Entschützung des Amins und fand unter Erhalt der Acetyl-Gruppe mit einer Ausbeute von 78 % (Lit.: 68 %) statt. Eine gesteigerte Ausbeute

konnte hier möglicherweise durch die Reduktion der Reaktionszeit von 66 h auf 6 h erreicht werden.

Die Spaltung der Acetylschutzgruppe mit Kaliumcarbonat lieferte den sekundären Alkohol **14** mit einer Ausbeute von 66 %, welcher durch Umsatz mit Mesylchlorid zu 73 % zum Markierungsvorläufer **15** umgesetzt werden konnte. Als Abgangsgruppe für die Radiofluorierung wurden neben der Mesylat- auch die Tosylat- und Triflat-Funktion untersucht. Der Mesylatvorläufer lieferte laut Publikation die besten Markierungsergebnisse, sodass auf die Evaluation einer alternativen Abgangsgruppe verzichtet wurde.

### 3.3.2 Darstellung der Referenzverbindungen

Zur Identifizierung des gewünschten Radioaktivprodukts mittels analytischer Radio-HPLC wurde die entsprechende  $^{19}\text{F}$ -Referenzverbindung 6-(2-Fluorpropyl)-4-methylpyridin-2-amin hergestellt (vgl. Schema 42). Dazu wurde zunächst die Hydroxyfunktion des nach der Lithiierung entstandenen Nebenproduktes **11** mittels Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) durch Fluor substituiert. Die Entfernung der Dimethylpyrrolgruppe mit Hydroxylaminhydrochlorid in Wasser und Ethanol lieferte den  $^{19}\text{F}$ -Standard **18**.

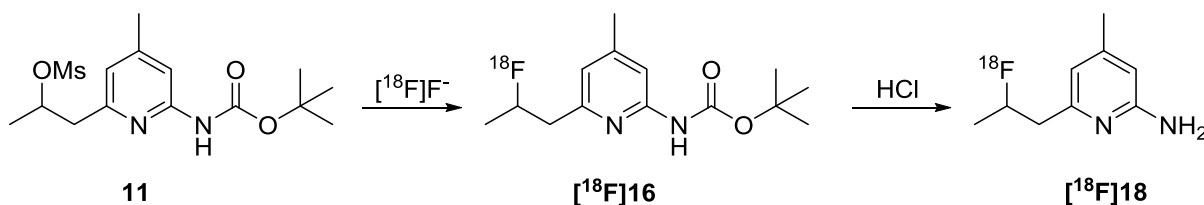


Schema 42: Darstellung von 6-(2-Fluorpropyl)-4-methylpyridin-2-amin **18**.

Mit Hilfe der hergestellten Fluorverbindung wurde nun eine analytische RP-HPLC Methode zur chromatographischen Trennung und Produktidentifizierung entwickelt. Die durch die Aminofunktion bedingte hohe Polarität von **18** erfordert ein starkes Laufmittel mit einem hohen Wasseranteil von 70 % in Acetonitril. Um eine Signalverbreiterung durch die starke Wechselwirkung des Amins mit dem Säulenmaterial einzuschränken, wurde der mobilen Phase außerdem 0,1 Vol.-% Triethylamin zugesetzt. Zur Identifizierung des Radiofluorierungsproduktes nach Umsetzung des aktivierten [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids mit dem Mesylatvorläufer mittels analytischer Radio-HPLC wurde auch die Boc-geschützte  $^{19}\text{F}$ -Referenzverbindung **16** durch Fluorierung der Verbindung **14** mit einer Ausbeute von 43 % dargestellt (vgl. Schema 41).

### 3.3.3 Radiosynthesen

Die ersten Markierungsversuche wurden analog zur Vorschrift von Zhou et al.<sup>196</sup> durchgeführt. Dazu wurde [<sup>18</sup>F]Fluorid in Gegenwart des Anionenaktivatorsystems Kaliumcarbonat und Kryptofix® 2.2.2. getrocknet und anschließend mit dem Vorläufer für 10 min bei 110 °C in Acetonitril erhitzt. Zur Abtrennung des nicht umgesetzten [<sup>18</sup>F]Fluorids wurde das Rohprodukt über eine kurze Kieselgel-Säule filtriert. In Gegenwart von Salzsäure wurde das Produkt [<sup>18</sup>F]16 entschützt.



Schema 43: Radiosyntheseschema der Darstellung von 6-(2-[<sup>18</sup>F]Fluorpropyl)-4-methylpyridin-2-amin [<sup>18</sup>F]18.

Die HPLC-Untersuchung des Radioaktivproduktes nach der Entschützung zeigte, dass nur etwa 3 % der gewünschten Verbindung [<sup>18</sup>F]18 entstanden waren. Stattdessen enthielt die Probe vergleichsweise viel [<sup>18</sup>F]Fluorid. Die Quantifizierung der anschließenden chromatographischen Reinigung mit Hilfe der Kieselgel-Säule zeigte, dass der größte Teil der eingesetzten Aktivität in Form nicht umgesetzten [<sup>18</sup>F]Fluorids auf der Säule fixiert wurde. Das Filtrat enthielt nur noch 5 % der Gesamtaktivität, sodass hier eine unzureichend ablaufende nukleophile Substitution als Grund für die geringe Ausbeute anzunehmen war.

Zhou et al.<sup>196</sup> beschrieben eine mögliche Basen-vermittelte Eliminierungsreaktion des Vorläufers 15 als Grund für die geringe Ausbeute. Eine Halbierung der zugegebenen Kaliumcarbonatstoffmenge oder eine höhere Vorläuferkonzentration konnte nach einigen Testsynthesen jedoch keine Ausbeutesteigerung bewirken.

Als alternatives Lösungsmittel wurde ein Gemisch aus *tert.*-BuOH und Acetonitril verwendet, welches auch zur Synthese des 5-[<sup>18</sup>F]Fluorlysins eingesetzt wurde und einen beschleunigenden Effekt auf nukleophile Substitutionsreaktionen mit n.c.a. [<sup>18</sup>F]Fluorid hat.<sup>228</sup> Nach ersten Testsynthesen konnte jedoch auch hiermit keine Steigerung der radiochemischen Ausbeute erzielt werden, sodass im weiteren Verlauf die nukleophile Substitution und eine mögliche Eliminierungsreaktion genauer untersucht wurden.

### Untersuchung der Substitutionsreaktion mit *n.c.a.* [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid

Für die Durchführung der azeotropen Trocknung und der Aktivierung des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids kann auf den Zusatz einer Base nicht verzichtet werden (vgl. Kapitel 1.2.1). Basische Reaktionsbedingungen können sich jedoch abhängig von der Vorläuferbeschaffenheit und anderen Faktoren negativ auf die Substitutionsreaktion auswirken oder sie sogar unterbinden. Insbesondere wenn Fluor-18 durch nukleophile Substitution in ein Molekül eingeführt werden soll, und sich die entsprechende Abgangsgruppe an einem sekundären oder tertiären C-Atom befindet, kann die Möglichkeit einer Basen-vermittelten Eliminierung nicht vernachlässigt werden. Im Falle des hier verwendeten Vorläufers **15** entstünde durch eine Eliminierung ein konjugiertes  $\pi$ -System, was eine solche befördert (vgl. Abbildung 30).

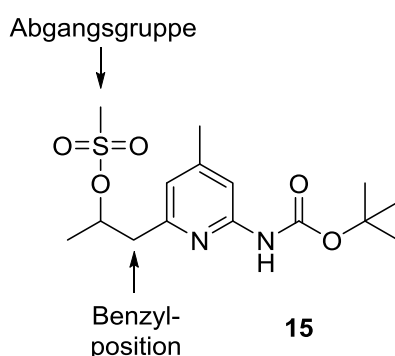


Abbildung 30: Begünstigende Faktoren für eine Eliminierungsreaktion unter Bildung eines konjugierten  $\pi$ -Systems beim Markierungsvorläufer **15**.

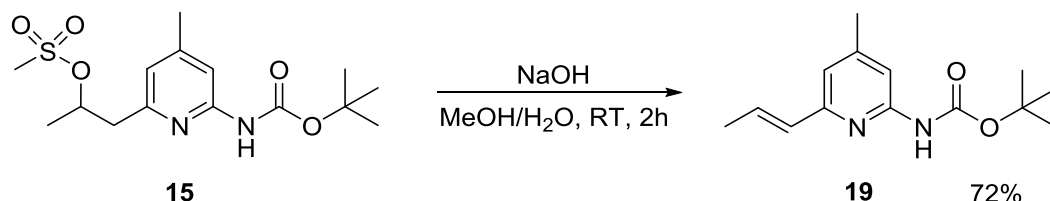
Im Falle des Markierungsvorläufers **15** befindet sich die Mesylat-Abgangsgruppe an einem sekundären Kohlenstoffatom in  $\beta$ -Position eines Aromaten. In direkter Peripherie dazu befinden sich zwei Protonen in Benzylposition, die sich durch ihre Nähe zum  $\pi$ -System und wegen dem aus ihrer Eliminierung resultierenden konjugierten  $\pi$ -System leicht entfernen lassen. Die Eigenschaft des Vorläufers, über seine Pyridinfunktion selbst basisch zu reagieren, erhöht noch die Wahrscheinlichkeit einer solchen Konkurrenzreaktion, sodass mit dem Vorläufer **15** und dem fluorierten Zwischenprodukt **16** Stabilitätstests unter Markierungsbedingungen notwendig erschienen.

### Untersuchung der Eliminierung als mögliche Konkurrenzreaktion

Zur Beantwortung der Frage, ob eine Eliminierungsreaktion am Vorläufer oder am gebildeten Fluorierungsprodukt ursächlich für die geringe radiochemische Ausbeute

ist, wurden der Vorläufer **15** und das fluoriierte Zwischenprodukt **16** jeweils für 10 min bei 60 °C und 110 °C ohne Base und in Anwesenheit von 30 mol-% Kaliumcarbonat bzw. Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat erhitzt. Anschließend wurde das Produktspektrum mittels HPLC untersucht.

Die für diese Versuche benötigte Referenzverbindung **19** wurde durch Reaktion des Vorläufers **15** mit Natriumhydroxid in einer Ausbeute von 72 % erhalten (vgl. Schema 44).



Schema 44: Synthese der Referenzverbindung **19** zur Untersuchung der Eliminierung.

Unter den gewählten Reaktionsbedingungen (vgl. Tabelle 12, Kapitel 4.5) konnte nur in seltenen Fällen die Bildung des Eliminierungsproduktes beobachtet werden. Das Integral unter dem entsprechenden Olefin-UV-Signal betrug im Verhältnis zum Integral des Markierungsvorläufers **15** oder des Zwischenproduktes **16** in diesen Fällen weniger als 1 %. Die aus den Testreihen erhaltenen Ergebnisse wurden als ausreichend erachtet, um auf die Möglichkeit, die Bildung des Eliminierungsproduktes auf Basis des Lambert-Beer-Gesetzes über das UV-Integral als Funktion der Konzentration zu quantifizieren, zu verzichten.

Folglich konnte eindeutig gezeigt werden, dass unter Markierungsbedingungen eine Eliminierungsreaktion als Konkurrenz zur Bildung des gewünschten  $^{18}\text{F}$ -markierten Produktes nicht, oder nur in vernachlässigbar geringem Maße, stattfindet und somit auch nicht der limitierende Faktor für die geringen radiochemischen Ausbeuten von Zhou et al.<sup>196</sup> war.

### **Optimierung Substitutionsreaktion mit n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid**

Bei der Optimierung der Reaktionsparameter kann die radiochemische Ausbeute abhängig vom Substrat mit der Wahl unterschiedlicher Phasentransferkatalysatoren wie Kryptofix® 2.2.2 /  $\text{K}_2\text{CO}_3$  und  $\text{TBAHCO}_3$  stark variieren. Außerdem spielen neben Lösungsmittelleffekten auch die Reaktionszeit und die Reaktionstemperatur eine große Rolle. Die Untersuchungen zur Abhängigkeit der radiochemischen Ausbeute von diesen Parametern bei der Substitutionsreaktion wurden in einem druck-

beständigen Sigradur®-Reaktor durchgeführt, was die Arbeit in weiten Temperaturbereichen auch mit niedrig siedenden Lösungsmitteln ermöglicht.

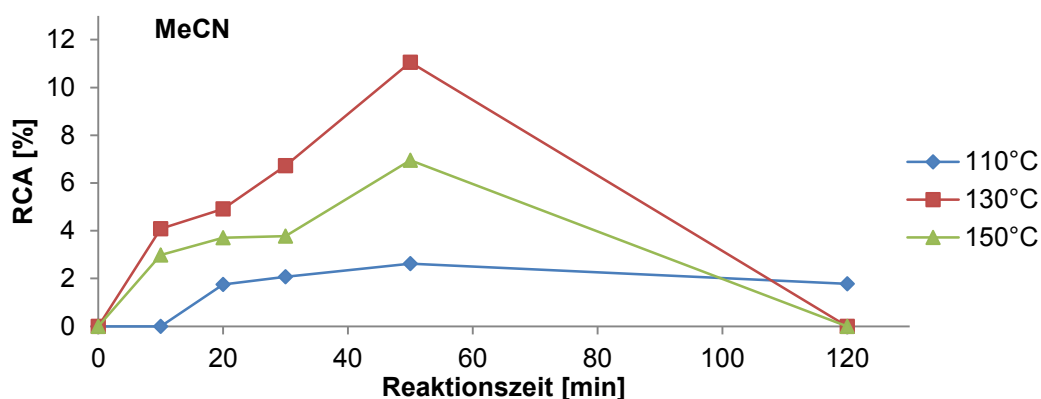


Abbildung 31: Zeitabhängigkeit der radiochemischen Ausbeute für die Bildung von  $[^{18}\text{F}]\mathbf{16}$  (Einzelversuche, 10  $\mu\text{mol}$   $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 10 mg (30  $\mu\text{mol}$ )  $\mathbf{15}$ , Lösungsmittel: 1 mL MeCN; modifiziert nach 229).

Es wurden insgesamt 18 Testreihen durchgeführt. Der Einsatz beider Aktivatorsysteme Kryptofix® 2.2.2 /  $\text{K}_2\text{CO}_3$  und TBAHCO<sub>3</sub> wurde jeweils mit drei Lösungsmitteln (*tert.*-BuOH/MeCN 9:1, MeCN und Dimethylsulfoxid (DMSO)) bezüglich der radiochemischen Ausbeute der Substitutionsreaktion bei 110 °C, 130 °C und bei 150 °C untersucht. Nach Reaktionszeiten von 10, 20, 30, 50 und 120 min wurde ein Aliquot zur radiochromatographischen Analyse entnommen. Die radiochemischen Ausbeuten wurden gegen die Reaktionszeit aufgetragen und die Messpunkte zur besseren Visualisierung des Verlaufs durch Linien verbunden (vgl. Abbildung 31).

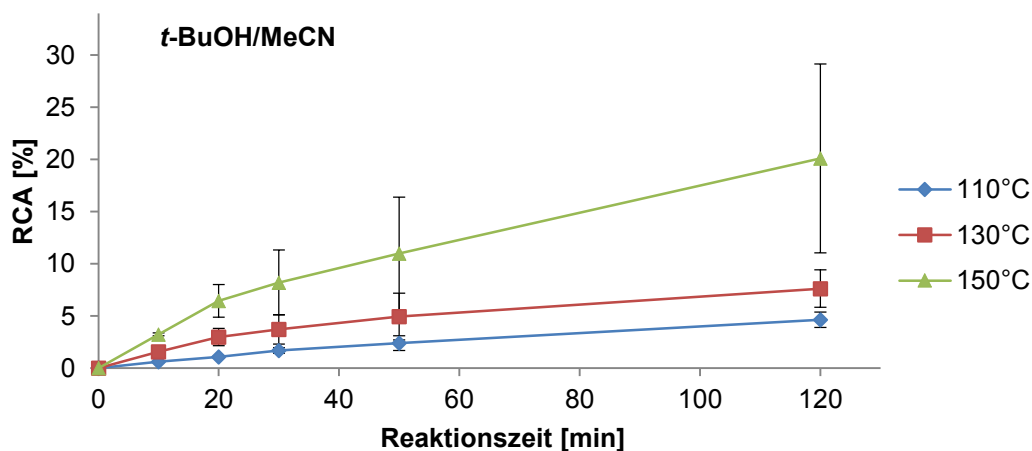


Abbildung 32: Zeitabhängigkeit der radiochemischen Ausbeute für die Bildung von  $[^{18}\text{F}]\mathbf{16}$  ( $n = 3$ , 10  $\mu\text{mol}$  TBAHCO<sub>3</sub>, 10 mg (30  $\mu\text{mol}$ ) Vorläufer  $\mathbf{15}$ , Lösungsmittel: 1 mL *t*-BuOH/ $\text{CH}_3\text{CN}$  9:1; nach 229).

Bezogen auf das Aktivatorsystem Kryptofix<sup>®</sup> 2.2.2 / K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> konnte die höchste Reaktionsausbeute bei 130 °C in Acetonitril erreicht werden (vgl. Abbildung 31).<sup>229</sup> Es zeigte sich in allen Testreihen, dass nach einer Reaktionszeit von 10 min die radiochemische Ausbeute noch gering ist, was vermuten lässt, dass der Vorläufer **15** nicht durch Konkurrenzreaktionen abgebaut wird, sondern eine unerwartete Reaktionsträgheit aufweist. So stieg nach einer Reaktionszeit von 50 min die Ausbeute bei 130 °C in Acetonitril auf etwa 11 %, wohingegen die maximal erreichbaren Ausbeuten in den anderen beiden Lösungsmitteln bei ca. 6 % lagen.

Mit TBAHCO<sub>3</sub> als Aktivator konnten mit dem Laufmittelgemisch aus *tert*.-BuOH und MeCN bei 150 °C Ausbeuten um 31 % erreicht werden, was gegenüber der publizierten Ausbeute von 17 % für die Substitutionsreaktion eine deutliche Steigerung darstellt.<sup>229</sup> Die Versuche wurden jeweils dreimal reproduziert, wobei die Ausbeuten vermutlich als Resultat einer unzureichenden Trocknung des [<sup>18</sup>F]Fluorids im Zusammenhang mit schwankenden Aktivitätskonzentrationen stark voneinander abwichen (vgl. Abbildung 32). Dennoch sind deutliche Trends erkennbar. So steigt auch hier die radiochemische Ausbeute und somit die Reaktionsgeschwindigkeit analog zur Arrhenius-Beziehung mit steigender Temperatur.

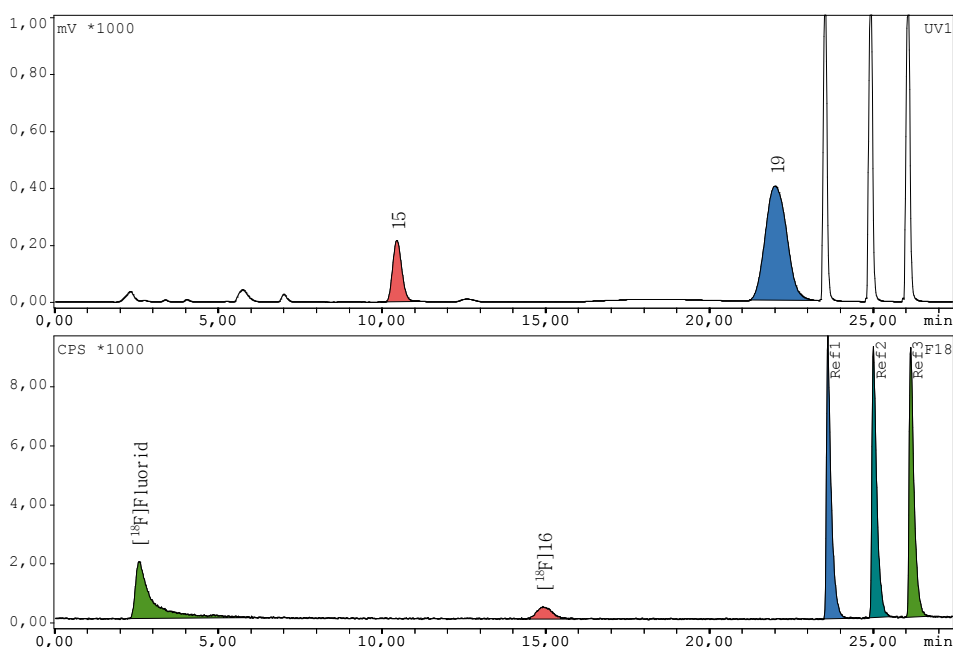


Abbildung 33: Beispielhaftes HPLC-Chromatogramm nach der Radiofluorierung von **15** (Bedingungen:  $T = 150\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $t = 30\text{ min}$  in MeCN mit  $10\text{ }\mu\text{mol}$  TBAHCO<sub>3</sub>; HPLC-System 1, Methode 9; nach 229).



Bei diesen Bedingungen und vor allem nach längeren Reaktionszeiten konnte auch die Bildung des Eliminierungsproduktes **19** beobachtet werden (vgl. Abbildung 33), wobei jedoch kein vollständiger Umsatz des Vorläufers zum Eliminierungsprodukt erfolgte.

Zusammenfassend haben eine höhere Reaktionstemperatur und eine längere Reaktionszeit einen maßgeblichen Einfluss auf die Steigerung der radiochemischen Ausbeute. So konnte bei den Optimierungsversuchen mit dem Anionenaktivator Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat eine RCA von 31 % für die Substitutionsreaktion erzielt werden. Auch der eingangs erwähnte positive Effekt von *tert.*-Alkoholen auf nukleophile Substitutionen war zu beobachten.

Die Reaktionszeit wird maßgeblich durch die physikalische Halbwertszeit von 109,7 min des Fluor-18 begrenzt. Der radioaktive Zerfall des Produktes wirkt der maximal isolierbaren Aktivität entgegen, sodass je nach Reaktionsgeschwindigkeit die isolierbare Aktivität sogar sinken kann. Zur Veranschaulichung der maximal erreichbaren Produktmenge wurde die bei der Radiosynthese von [ $^{18}\text{F}$ ]**16** in *tert.*-BuOH/Acetonitril mit TBA[ $^{18}\text{F}$ ]F bei 150 °C erhaltene radiochemische Ausbeute auf eine hypothetische Startaktivität von 100 MBq bezogen und anschließend zerfallskorrigiert (vgl. Abbildung 34).

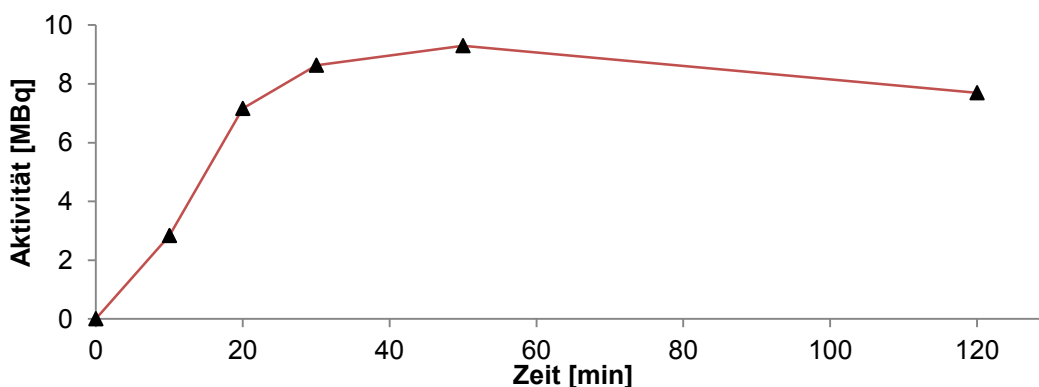


Abbildung 34: Zeitliche Abhängigkeit der maximal zu erhaltenden realen Aktivitätsmenge an [ $^{18}\text{F}$ ]**16** für eine hypothetische Startaktivität von 100 MBq (Reaktionsbedingungen: 10 mg (30  $\mu\text{mol}$ ) **15**, 10  $\mu\text{mol}$  TBAHCO<sub>3</sub>, Lösungsmittel: 1 mL *t*-BuOH/MeCN 9:1,  $n = 3$ ).

Die Grafik verdeutlicht, dass die maximal zu erhaltende Menge an [ $^{18}\text{F}$ ]**16** nach einer Reaktionszeit von ca. 50 min erreicht wird und eine längere Synthesedauer trotz einer steigenden RCA, die der chemischen Ausbeute entspricht (vgl. Abbildung 32), zu einer zerfallsbedingten Verringerung der verfügbaren Aktivität an [ $^{18}\text{F}$ ]**16** führt.

### Entwicklung einer Eintopf-Radiosynthese von [ $^{18}\text{F}$ ]18

Die routinemäßige Herstellung von Radiopharmaka mit hohen Aktivitäten erfolgt aus Strahlenschutzgründen in stark abgeschirmten fernsteuerbaren Synthesemodulen. Zur Übertragung einer Radiosynthese auf ein automatisiertes Verfahren sollte daher der apparative Aufwand möglichst gering sein. Im Anschluss an die Optimierungsversuche wurde daher ein vereinfachtes Eintopfverfahren entwickelt, was die spätere Automatisierung der Radiosynthese vereinfacht. Zunächst wurde dazu die Radiosynthese mit den angepassten Reaktionsparameter für die Substitutionsreaktion ohne Veränderung der darauf folgenden Entschützungsprozedur im *Sigradur*<sup>®</sup>-Reaktor durchgeführt. Nach einer 50-minütigen Radiofluorierung bei 150 °C mit Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat in *tert.*-BuOH/Acetonitril wurde das Produktgemisch über eine Kieselgel-Säule gereinigt, wobei 30 % der Aktivität in das zweite Reaktionsgefäß eluiert werden konnte. Die anschließende saure Entschätzung mit 1 M Salzsäure lieferte nach den ersten Versuchen eine mittlere radiochemische Ausbeute von  $18 \pm 10$  %.

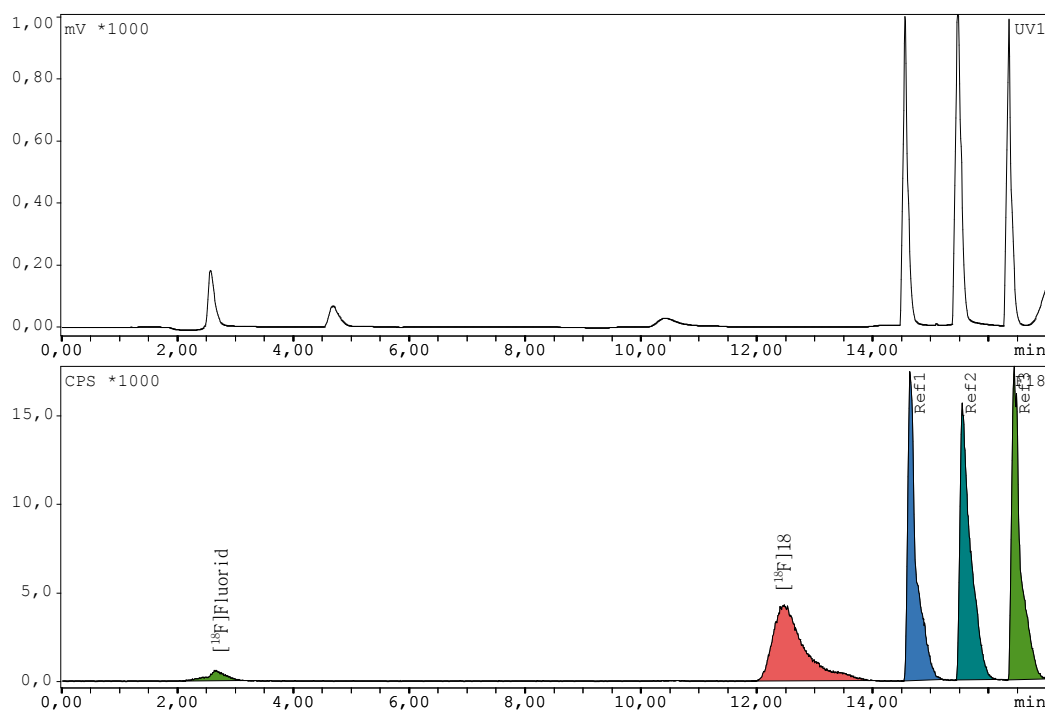


Abbildung 35: HPLC-Chromatogramm nach Eintopfsynthese bei 150 °C nach 60 min in *tert.*-BuOH/ $\text{CH}_3\text{CN}$  mit 10  $\mu\text{mol}$  TBAHCO<sub>3</sub> (HPLC-System 1, Methode 7; nach 229).

Mit der Durchführung der Substitutionsreaktion und der anschließenden Entschätzung in einem Gefäß ohne die vorgeschlagene zwischenzeitige Kartuschenabtrennung des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids wurden mittlere radiochemische Ausbeuten von

26 ± 5 % (n = 5) erzielt. Der Produktanteil im Reaktionsgemisch betrug 79 ± 9 % (vgl. Abbildung 35), sodass zusammenfassend mit der Anpassung der Reaktionsbedingungen im Vergleich zur beschriebenen Prozedur<sup>196</sup> ein effektives Eintopfverfahren zur Radiosynthese des gewünschten iNOS-Inhibitors entwickelt werden konnte.

### ***Aufreinigungsmethoden und Automatisierungsmöglichkeiten***

Die Entwicklung des Eintopfverfahrens für die Radiosynthese des iNOS-Inhibitors [<sup>18</sup>F]18 ermöglicht nun die einfache Übertragung auf ein automatisiertes Synthesekonzept. Die Bereitstellung eines zur intravenösen Anwendung vorgesehenen Radiotracers kann nach einer präparativen oder semipräparativen HPLC-Aufreinigung erfolgen. Bisher wurde zur Produktanalyse von [<sup>18</sup>F]18 eine HPLC-Methode mit einer mobilen Phase aus 30 % Acetonitril, 70 % Wasser und 0,1 Vol.-% Triethylamin verwendet. Eine *in vivo* Anwendung des auf diese Weise zur Verfügung gestellten Tracers war aufgrund der Toxizität des Laufmittels nicht möglich, sodass eine alternative Aufreinigungsmethode entwickelt werden musste.

Im Hinblick darauf wurde die Rohproduktlösung in 30 % Ethanol und 70 % Wasser unter Zusatz von Trinatriumphosphat chromatographisch aufgetrennt. Bei diesen Bedingungen wies [<sup>18</sup>F]18 eine deutliche Signalverbreiterung auf. Jedoch wurde durch die längere Retentionszeit von etwa 30 min eine hohe chemische Reinheit erreicht, da im UV-Kanal keine Nebenprodukte zu beobachten waren. Das so erhaltene Produkt musste nach der HPLC-Abtrennung zur Senkung der Ethanolkonzentration lediglich verdünnt werden. Für das verwendete HPLC-Trennverfahren konnte durch Vergleich mit einer Kalibrierkurve und einer Aktivitätsmenge von 25 MBq für [<sup>18</sup>F]18 eine molare Aktivität von ≥ 48 GBq/μmol gemessen werden. Bei Einsatz höherer Startaktivitäten kann dieser Wert entsprechend gesteigert werden.

### **3.3.4 Zusammenfassung der Optimierungen zur Darstellung des iNOS-Inhibitors [<sup>18</sup>F]18**

Die bisherige Radiosynthese des iNOS-Inhibitors von 4-(2-[<sup>18</sup>F]Fluorpropyl)-4-methyl-2-aminopyridin [<sup>18</sup>F]18 lieferte nach einem apparativ aufwendigen Verfahren nur eine geringe radiochemische Ausbeute von ca. 6 % was den routinemäßigen Einsatz erheblich einschränkt. Daher wurde die Radiosynthese hier unter n.c.a. Bedingungen für spätere *in vivo* Anwendungen optimiert. Die Herstellung des dazu verwendeten

Markierungsvorläufers 1-(6-(*tert.*-Butoxycarbonylamino)-4-methylpyridin-2-yl)-propan-2-yl-methansulfonat (**15**) und der authentischen Zielverbindung 4-(2-Fluorpropyl)-4-methyl-2-aminopyridin (**18**) gelang analog der Literaturvorschrift.

Die Untersuchung der Stabilität des Markierungsvorläufers und des fluorierten Zwischenproduktes *tert.*-Butyl-6-(2-fluorpropyl)-4-methylpyridin-2-ylcarbammat (**16**) gegenüber den Markierungsbedingungen ergab im Gegensatz zum Postulat der früheren Publikation, dass die niedrige radiochemische Ausbeute nicht auf eine konkurrierende Eliminierungsreaktion zurückzuführen war.

Zur Optimierung der radiochemischen Ausbeute wurden die Zeit- und Temperaturabhängigkeit in den Lösungsmitteln *tert.*-Butanol/Acetonitril (9 / 1), Acetonitril und Dimethylsulfoxid bestimmt. Als aktivierende Systeme für n.c.a. [<sup>18</sup>F]Fluorid dienten Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat und Kaliumcarbonat / Kryptofix® 2.2.2. Ebenfalls wurde die Zeitabhängigkeit jeweils für Reaktionstemperaturen von 110 °C, 130 °C und 150 °C untersucht.

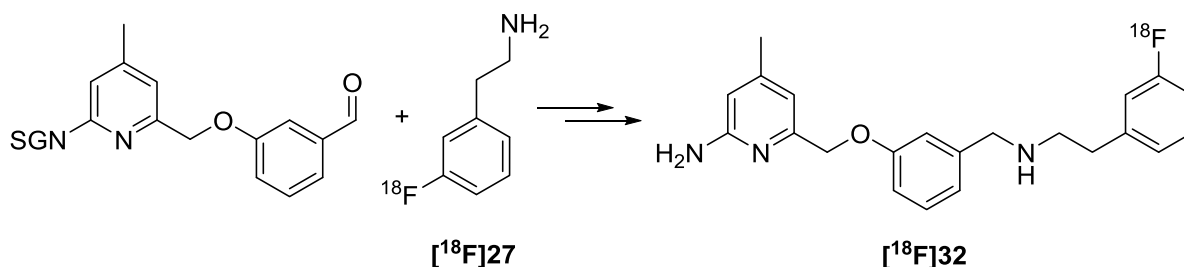
Es zeigte sich, dass mit dem Lösungsmittelgemisch aus *tert.*-Butanol und Acetonitril in Anwesenheit von Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat nach einer Reaktionszeit von 120 min bei 150 °C die radiochemische Ausbeute der nukleophilen Substitution mit n.c.a. [<sup>18</sup>F]Fluorid bis auf 31 % gesteigert werden konnte. Im Hinblick auf den radioaktiven Zerfall wurde ein Ausbeutemaximum mit einer RCA von ca. 19 % bereits nach einer Reaktionszeit von 50 min erreicht.

Die Radiosynthese wurde nach Optimierung der Substitutionsreaktion auf ein Eintopfverfahren mit erheblich geringerem apparativen Aufwand übertragen, welches das gewünschte Produkt in hoher radiochemischer Reinheit mit einer radiochemischen Ausbeute von  $26 \pm 5 \%$  ( $n = 5$ ) lieferte. Die Entwicklung eines alternativen HPLC-Trennverfahrens mit nicht-toxischen Eluenten und eine erzielte molare Aktivität von  $\geq 48 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$  ermöglichen spätere *in vivo* Anwendungen.

Mithilfe der wesentlich verbesserten Reaktionsbedingungen konnte 4-(2-[<sup>18</sup>F]Fluorpropyl)-4-methyl-2-aminopyridin (**[<sup>18</sup>F]18**) über eine effektive Radiosynthese und im Hinblick auf eine Automatisierung über ein vielversprechendes Eintopfverfahren hergestellt werden. Diese Untersuchungen stellen nun die Basis für präklinische Studien und nähere Untersuchungen der induzierbaren Stickstoffmonoxid-Synthase mit dem bildgebenden Verfahren der Positronen-Emissions-Tomographie dar.

### 3.4 Darstellung des nNOS Inhibitors 6-((3-((3-[<sup>18</sup>F]Fluorphenyl)ethylamino)methyl)phenoxy)methyl)-4-methylpyridin-2-amin

Zu den Peptid-basierten NOS-Inhibitoren zählt das in Kapitel 1.4.1 bereits erwähnte 6-((3-((3-Fluorphenylethylamino)methyl)phenoxy)methyl)-4-methylpyridin-2-amin<sup>190</sup> (**32**). Dieser NOS-Ligand weist hinsichtlich seines Bindungsprofils eine hohe Isoform-Selektivität gegenüber der neuronalen NOS auf und bietet damit gegenüber den Arginin-basierten Verbindungen ein hohes Potential hinsichtlich der Entwicklung therapeutischer Ansätze beispielsweise zur Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen. Eine Analogmarkierung dieses nNOS-Inhibitors würde einen Zugang zur Untersuchung der neuronalen NO-Synthase über die Positronen-Emissions-Tomographie mittels molekularer Bildgebung ermöglichen.



Schema 45: Synthesekonzept zur Darstellung des nNOS-Inhibitors [<sup>18</sup>F]24.

Für die Herstellung des analog radiofluorierten nNOS-Liganden 6-((3-((3-[<sup>18</sup>F]Fluorphenylethylamino)methyl)phenoxy)methyl)-4-methylpyridin-2-amin (**[<sup>18</sup>F]32**) (vgl. Schema 45) standen unterschiedliche Markierungsmethoden zur Verfügung. Aufgrund der Komplexität der Verbindung wurde zu Beginn eine Aufbausynthese angestrebt, bei der zunächst ein kleines Fragment der Zielverbindung radiofluoriert und anschließend mit einem entsprechenden Synthon zum gewünschten nNOS-Inhibitor verknüpft wurde. Dieses Verfahren war zwar im Vergleich zu einer Direktmarkierung der Zielverbindung mit einem erhöhten radiosynthetischen Aufwand verbunden, ermöglichte jedoch ein relativ einfaches Vorläufersynthesekonzept. Außerdem konnte auf diese Weise in einem frühen Entwicklungsstadium festgestellt werden, ob und mit welcher Markierungsmethode sich der terminale Phenylrest radiofluorieren ließ.

Da es sich bei dem Synthon **[<sup>18</sup>F]27** um eine für eine nukleophile Substitution nicht geeignete Struktureinheit handelt, die in dieser Form auch noch nicht <sup>18</sup>F-markiert wurde, musste dafür zunächst ein neuer <sup>18</sup>F-Markierungsweg entwickelt werden.

Wie in der Einleitung ausgeführt eignen sich hypervalente Iodverbindungen hervorragend für die nukleophile n.c.a.  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung von nicht aktivierten Aromaten. Die sogenannten Iodoniumylide (vgl. Kapitel 1.2.4) zeichnen sich durch vergleichsweise hohe Stabilität und gute Markierungsausbeuten aus und stellen deshalb eine Möglichkeit für eine effiziente Direktmarkierung dar.

### 3.4.1 Voruntersuchungen zur Darstellung und Eignung des Synthons $[\text{}^{18}\text{F}]\text{27}$ für die Aufbausynthese zum $^{18}\text{F}$ -markierten nNOS-Inhibitor

In Vorversuchen wurde zunächst ein geeigneter Iodoniumylidvorläufer einer Modellverbindung hergestellt, welcher anschließend mit n.c.a.  $[\text{}^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$  umgesetzt und auf seine Eignung als Markierungsvorläufer für die Radiosynthese von  $[\text{}^{18}\text{F}]\text{27}$  getestet wurde.

#### ***Vorläufersynthese für die Darstellung von 3- $[\text{}^{18}\text{F}]\text{Fluorphenylethylamin}$***

Ausgehend von kommerziell erhältlichem 3-Iodphenylacetonitril konnte das gewünschte Iodoniumylid **20** nach einer bekannten Eintopfsynthese<sup>234</sup> in Anwesenheit von *meta*-Chlorperbenzoesäure (*m*CPBS), Kaliumhydroxid und Meldrumsäure mit einer Ausbeute von 27 % hergestellt werden (vgl. Abbildung 36).

Zur Untersuchung des Zweitsubstituenteneinflusses auf die Ausbeute des Iodoniumylids wurde jeweils auch das *ortho*- und das *para*-substituierte Ylid hergestellt. Die Ausbeuten lagen zwischen 23 und 26 % und ließen im Falle der Iodphenylacetonitril-derivate keinen Schluss auf einen Trend zu. Zur Markierung mit  $[\text{}^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$  kommen diese Verbindungen aufgrund ihrer C-H-Acidität nicht in Frage, was durch testweise Umsetzung mit  $[\text{}^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$  bestätigt werden konnte. Dennoch zeigen die moderaten Ausbeuten der Vorläufersynthese eine prinzipielle Machbarkeit der oxidativen Umsetzung zu den gewünschten Iodoniumyliden an.

Auf Basis dieser Untersuchung wurde das Nitril zum Amin reduziert und anschließend mit einer Boc-Schutzgruppe versehen. Die daraus hergestellte Iodoniumverbindung **24** (vgl. Abbildung 36) bietet möglicherweise ein hohes Potential für eine Radiofluorierung und lässt sich anschließend leicht zum gewünschten Synthon entschützen.

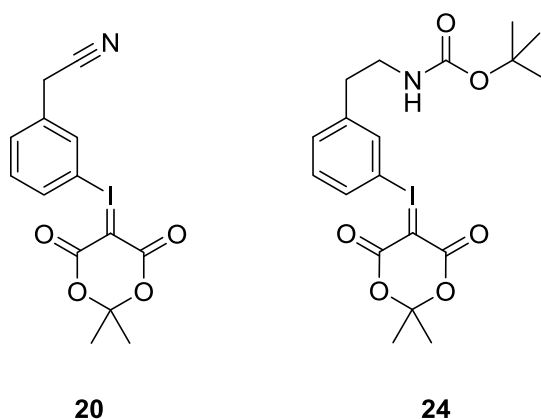
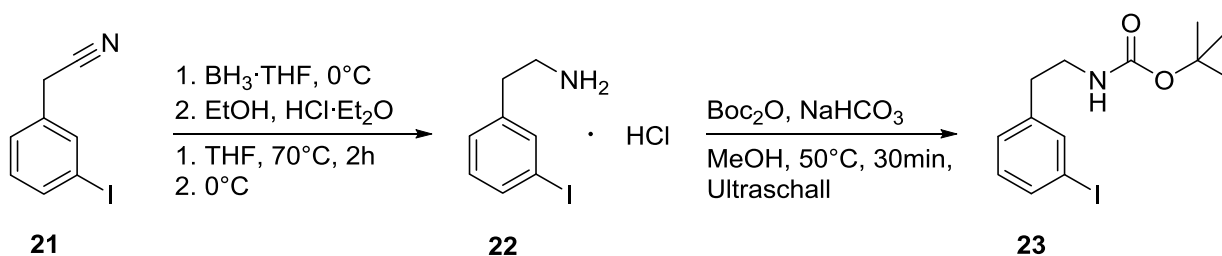


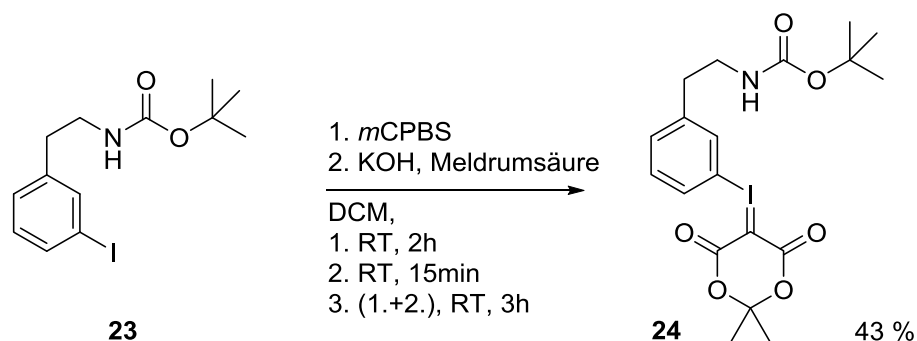
Abbildung 36: Potentielle Iodoniumvorläufer für die Synthese zu [ $^{18}\text{F}$ ]**27**.

Die Reduktion des Nitrils **21** mit Boran zum 3-Iodphenylethylamin **22** wurde nach einer Arbeitsvorschrift von Wyffels et al.<sup>232</sup> durchgeführt. Das quantitativ als Hydrochlorid erhaltene Amin bedurfte einer Weiterverarbeitung im basischen Milieu. Die Einführung der Schutzgruppe erfolgte daher nach einer modifizierten Methode der Arbeitsvorschrift von Einhorn et al.<sup>233</sup>, die in Anwesenheit von Natriumhydrogencarbonat und Di-*tert.*-butyldicarbonat bei 50 °C im Ultraschallbad nach 30 min das geschützte Phenylethylaminderivat **24** nahezu quantitativ mit einer Ausbeute von 94 % über beide Syntheseschritte lieferte (vgl. Abbildung 46).



Schema 46: Syntheseweg zur Darstellung des Boc-geschützten Intermediats **23**.

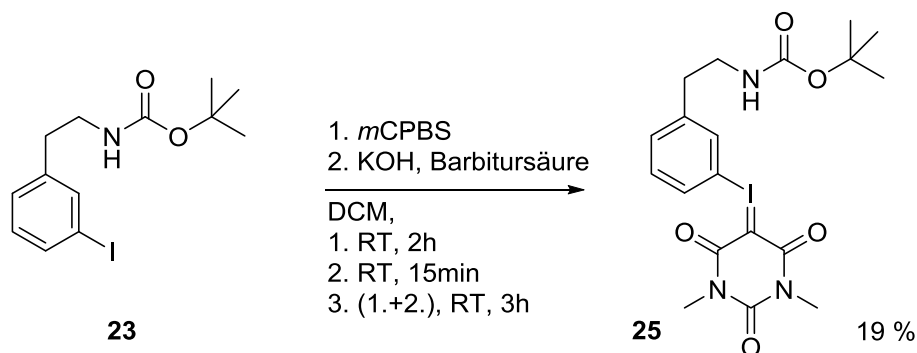
Wie bereits zuvor das entsprechende Nitril wurde nun auch das *tert.*-Butyl-(3-iodphenylethyl)carbamate (**23**) nach einer Eintopfsynthese von Cardinale et al.<sup>234</sup> zum Ylid umgesetzt (vgl. Schema 47). In der Literatur werden verschiedene Varianten der Synthesedurchführung beschrieben. Die hier verwendete Methode lieferte ein intensiv gelb-oranges Produkt mit ölig-viskoser Konsistenz, welches nach Vorschrift aufgearbeitet wurde. Da das Ausfällen mit Hexan aus Dichlormethan jedoch oft erst nach mehreren Versuchen erfolgreich war und die Ausbeute des Produktes **24** nur gering ausfiel (~20 %), wurde ein säulenchromatographisches Trennverfahren in Betracht gezogen.



Schema 47: Darstellung des Vorläufers **24** mittels Eintopfverfahren (nach 234).

Die Auftragung des Rohproduktes auf Kieselgel und die anschließende Trennung mit Ethylacetat lieferte das Ylid mit einer Ausbeute von 43 %. Auf die gleiche Weise wurden auch die korrespondierenden *ortho*- und *para*-Derivate von **23** und **24** hergestellt, die mit ähnlich hoher Ausbeute (46 % *ortho*-**24**; 45 % *para*-**24**) isoliert wurden.

In der Patentschrift von *Satyamurthy* und *Barrio* aus dem Jahr 2010 werden verschiedene Iodoniumylide und ihre Umsetzung mit [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid beschrieben.<sup>235</sup> Die radiochemische Ausbeute der  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreaktion für das von der Barbitursäure abgeleitete Ylid lag mit 63 % nur etwa 2 % über der radiochemischen Ausbeute der Reaktion mit dem Meldrumsäure-Ylid, weshalb die Barbitursäure-Ylide eine vielversprechende Alternative darstellen.<sup>235</sup> Aus diesem Grund wurde ausgehend von **23** zunächst mit *m*CPBS die hypervalente Iod(III)-Verbindung über das beschriebene Eintopfverfahren hergestellt und *in situ* mit dem Barbiturat zum entsprechenden Iodoniumylid umgesetzt (s. Schema 48).



Schema 48: Darstellung des Vorläufers **25** mittels Eintopfverfahren (nach 234).

Das auf diese Weise erhaltene Iodoniumylid **25** war im Vergleich zu der Meldrumsäure-basierten Verbindung **24** hoch instabil. So konnten hier durch Fällung lediglich 21 % des *ortho*-substituierten und 19 % des *meta*-substituierten Derivates

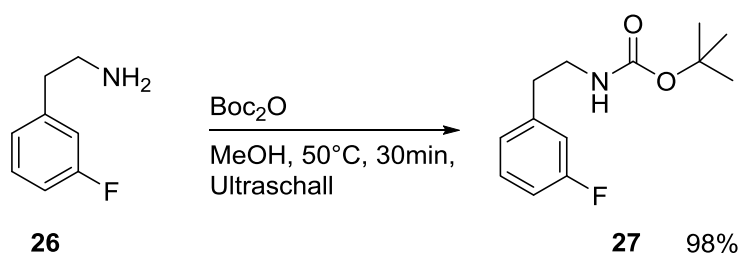


von **25** isoliert werden. Eine säulenchromatographische Aufreinigung der Isomere über Kieselgel mit Ethylacetat oder Aceton führte zur vollständigen Zersetzung der Produkte.

Insgesamt wurde erfolgreich ein Markierungsvorläufer für die Radiosynthese von 3-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorphenylethylamin hergestellt. Ein optimiertes Aufreinigungsverfahren ersetzte das mühsame Fällen der Iodoniumverbindung und ermöglichte die einfache Isolierung des Iodoniumylids **24**. Als mögliche Alternative wurde auch erstmals das von der Barbitursäure abgeleitete Iodoniumylid **25** mit einer Ausbeute von 19 % isoliert.

### **Darstellung der Referenzverbindung *tert*.-Butyl-(3-fluorphenylethyl)carbamat**

Zur eindeutigen Identifizierung des  $^{18}\text{F}$ -fluorierten Produkts mittels Radio-HPLC oder Radio-DC wurde die entsprechende  $^{19}\text{F}$ -Referenzverbindung *tert*.-Butyl-(3-fluorphenylethyl)carbamat (**27**) mit einer Ausbeute von 98 % ausgehend von kommerziell erhältlichem 3-Fluorphenylethylamin **26** über eine modifizierte Synthesevorschrift von *Einhorn et al.*<sup>233</sup> hergestellt (vgl. Schema 49).

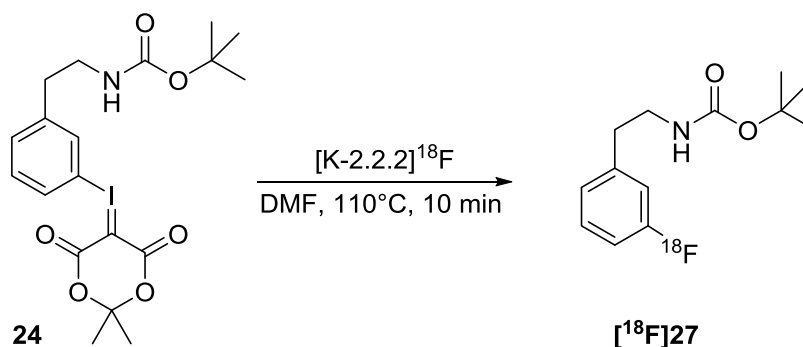


Schema 49: Darstellung der Boc-geschützten Referenzverbindung **27** (nach 233).

Auch die *ortho*- und *para*-substituierten Derivate von **27** wurden fast quantitativ hergestellt (97 % *ortho*-**27**; 96 % *para*-**27**).

### **Markierungsversuche zur Darstellung von *tert*.-Butyl-(3-[ $^{18}\text{F}$ ]fluorphenylethyl)carbamat**

Für die ersten Markierungsversuche zur Darstellung von *tert*.-Butyl-(3-[ $^{18}\text{F}$ ]fluorphenylethyl)carbamat ([ $^{18}\text{F}$ ]**27**) wurden angelehnt an die Literaturbedingungen<sup>235</sup> das Iodoniumylid **24** mit n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid und dem Anionenaktivatorsystem aus Kryptofix® 2.2.2 und Kaliumcarbonat in DMF umgesetzt (vgl. Schema 50).



Schema 50: Radiosyntheseschema der Darstellung von [<sup>18</sup>F]27.

Das Rohprodukt wurde nach chromatographischer Kartuschenabtrennung mittels HPLC analysiert. Das entsprechende Radiochromatogramm zeigt eine fast quantitative Abwesenheit des [<sup>18</sup>F]Fluorids (< 2 %) und neben dem Hauptprodukt auch ein Nebenprodukt bei etwa 15 min, welches nicht näher charakterisiert wurde (vgl. Abbildung 37). Das bei einer Retentionszeit von 10,8 min dargestellte Produktsignal entspricht in Relation zum UV-Signal des koinjizierten Standards dem tatsächlichen Produkt [<sup>18</sup>F]27, wenn die zeitliche Verzögerung durch den Detektorabstand von 0,6 min berücksichtigt wird.

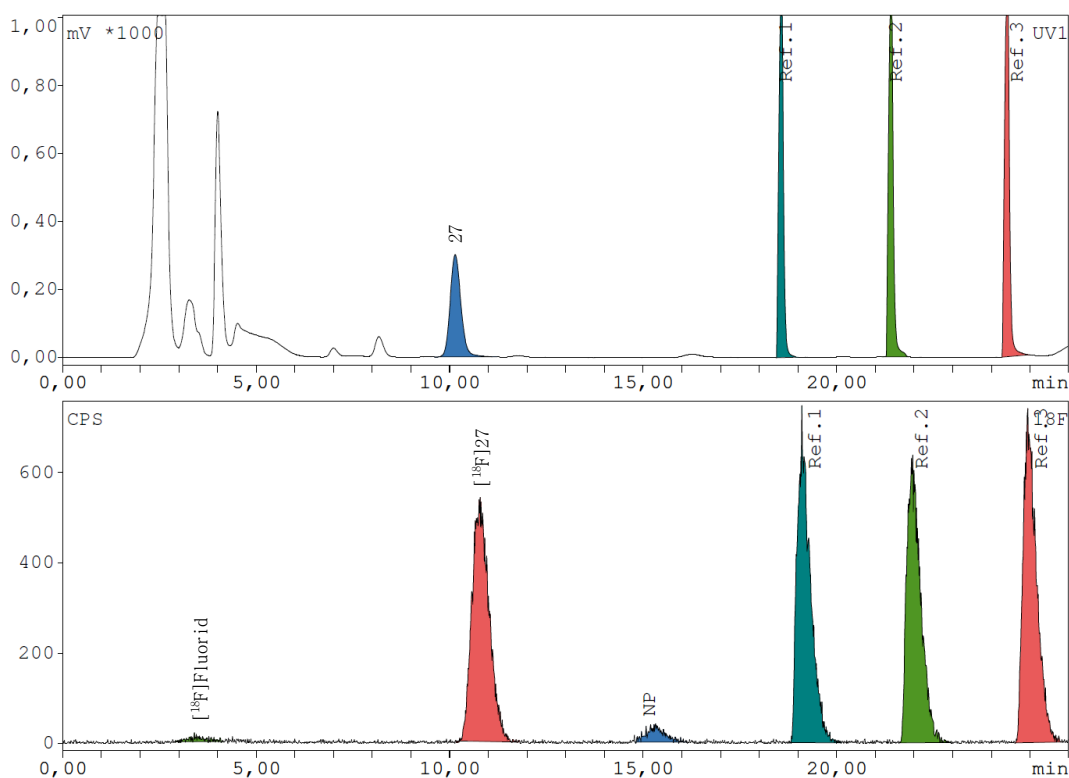


Abbildung 37: UV- und Radiochromatogramm des Produktes nach der Markierungsreaktion zu [<sup>18</sup>F]27 nach Abtrennung mittels C-18-Kartusche. Die Referenzverbindung 27 wurde zur Identifizierung koinjiziert (HPLC-System 1, Methode 12).

Ein entsprechendes Radioaktivprodukt wurde unter diesen Reaktionsbedingungen sowie auch bei der Verwendung des alternativen Vorläufers **25** nicht nachgewiesen, was möglicherweise mit einer unzureichenden Stabilität der Ylide zusammenhängt.

Nach der gelungenen Radiosynthese des Boc-geschützten [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorphenylalkyl-derivats wurden Untersuchungen zur Optimierung der radiochemischen Ausbeute durchgeführt. Dazu wurde zunächst die Vorläufermenge variiert. Ausgehend von 25  $\mu\text{mol}$  wurden in einer Versuchsreihe jeweils drei Markierungsreaktionen mit der 0,5-fachen, äquimolaren und 1,5-fachen Stoffmenge des Vorläufers **24** unter identischen Bedingungen getestet.

Wie in Abbildung 38 zu erkennen ist, weist die Reaktion eine hohe Reproduzierbarkeit auf. Eine Steigerung der Vorläuferstoffmenge von 12,5  $\mu\text{mol}$  auf 25  $\mu\text{mol}$  führte zu einer Verdopplung der RCA von etwa 40 % auf 80 %, wohingegen eine weitere Steigerung der eingesetzten Stoffmenge keine wesentliche Erhöhung der Ausbeute mehr zur Folge hatte. Dieser Beobachtung folgend wurde für die weiteren Untersuchungen eine Stoffmenge von 25  $\mu\text{mol}$  benutzt.

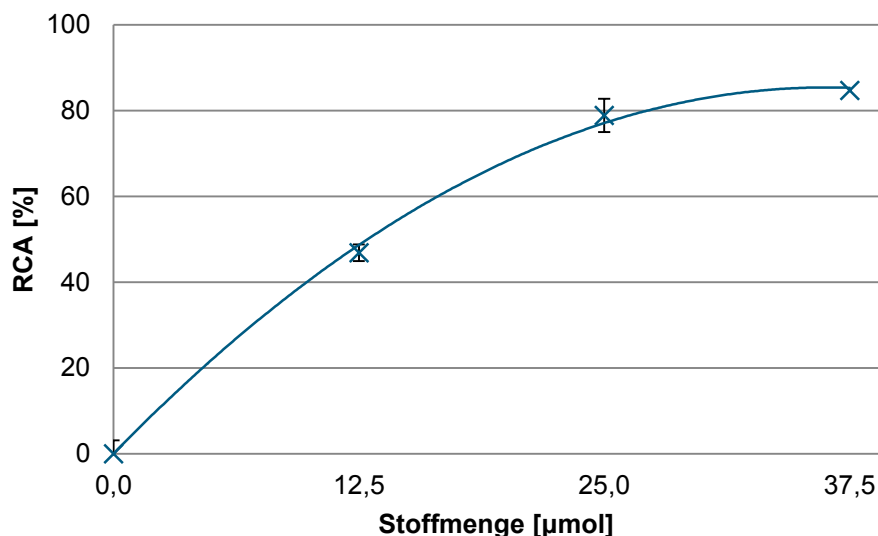


Abbildung 38: Radiochemische Ausbeuten von [ $^{18}\text{F}$ ]**27** nach der Verwendung unterschiedlicher Stoffmengen des Markierungsvorläufers **24** bei 110 °C nach 10 min in DMF ( $n = 3$ ).

Zum Vergleich der radiochemischen Ausbeuten wurden desweiteren die *ortho*- und *para*-substituierten Vorläuferylide der Verbindung **24** jeweils unter identischen Bedingungen mit [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid umgesetzt. Bei einer eingesetzten Vorläuferstoffmenge von 25  $\mu\text{mol}$  wurden bei 110 °C nach 10 min in DMF mit 79 % die höchsten

$^{18}\text{F}$ -Fluorierungsausbeuten für das meta-Derivat **[ $^{18}\text{F}$ ]27** erreicht. Das *para*-substituierte Iodoniumylid lieferte in dieser Reihe Ausbeuten um 58 %, wohingegen das *ortho*-substituierte Derivat von **[ $^{18}\text{F}$ ]27** nur noch mit einer Ausbeute zwischen 29 und 34 % erhalten wurde. Möglicherweise lässt sich dieser Trend (*meta* > *para* > *ortho*) mit den unterschiedlichen elektronischen Eigenschaften der verschiedenen substituierten Vorläufer in Verbindung bringen. Die Alkylfunktion trägt mit einem positiven induktiven Effekt zur Desaktivierung der *ortho*- und *para*-Position für den nukleophilen Angriff durch  $^{18}\text{F}$ Fluorid bei, was in einer Ausbeuteverringerung der Radiofluorierung zu den entsprechenden Produkten resultieren könnte. Die niedrige Ausbeute für das *ortho*-**[ $^{18}\text{F}$ ]27** ist vermutlich auch einer sterischen Hinderung zuzuschreiben.

Zur Untersuchung des Temperatureinflusses wurde die radiochemische Ausbeute von **[ $^{18}\text{F}$ ]27** jeweils bis zu einer Reaktionszeit von 30 min bei 90 °C, 110 °C, 130 °C und 150 °C untersucht. Bei Auftragung der RCA für alle vier untersuchten Reaktionstemperaturen gegen die Zeit ergibt sich folgendes Diagramm (vgl. Abbildung 39).

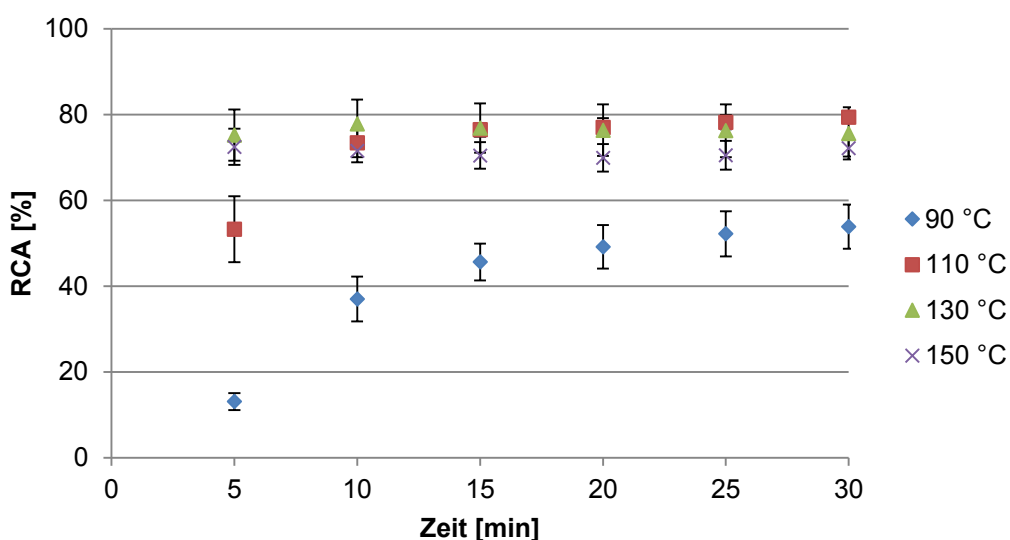


Abbildung 39: Zeitabhängigkeit der radiochemischen Ausbeuten von **[ $^{18}\text{F}$ ]27**. Vorläuferstoffmenge: 25  $\mu\text{mol}$ , Aktivatorsystem: Kryptofix<sup>®</sup> 2.2.2 / Kaliumcarbonat, DMF.

Jeder Punkt stellt einen Mittelwert aus drei Versuchsreihen mit je drei Messwerten dar. Es fällt auf, dass die RCA bei einer Reaktionstemperatur von 90 °C im zeitlichen Verlauf nur langsam zunimmt und nach 30 min einen maximalen Wert von 53 % erreicht. Desweiteren nimmt die Reaktionsausbeute gemäß der Arrhenius-Beziehung insbesondere nach einer Reaktionszeit von 5 min mit steigender Temperatur deutlich zu. Für die Reaktionstemperaturen zwischen 110 °C und 150 °C wurden in

Einzelversuchen bereits nach 15 min maximale Ausbeuten von bis zu 86 % erreicht, sodass auf eine Variation des Lösungsmittels und des Anionenaktivatorsystems für eine weitere Ausbeuteoptimierung verzichtet wurde.

Insgesamt wurde das für die Darstellung des  $^{18}\text{F}$ -markierten nNOS-Inhibitors benötigte Synthon *tert*.-Butyl-(3-[ $^{18}\text{F}$ ]fluorphenylethyl)carbammat (**[ $^{18}\text{F}$ ]27**) erfolgreich mit einer Ausbeute von 79 % über das korrespondierende Iodoniumylid hergestellt. Bei einer Reaktionstemperatur von 130 °C wurden bereits nach 5 min in DMF die mit den verwendeten Parametern maximal erreichbaren radiochemischen Ausbeuten erzielt.

In jüngerer Vergangenheit wurde durch *Cardinale* et al.<sup>234</sup> eine unerwartete Isomerenbildung bei der Radiofluorierung an *para*-funktionalisierten Ylid-Derivaten beobachtet (vgl. Kapitel 1.2.4), deren Untersuchung in die ursprüngliche Problemstellung mit einbezogen wurde.

#### **Untersuchung der Regioselektivität der Radiofluorierung ausgewählter Iodoniumylide**

Zur Untersuchung, ob der von *Cardinale* et al.<sup>234</sup> festgestellte Trend der radiochemischen Ausbeuten reproduziert werden kann, wurden zunächst die bereits über das neuartige Eintopfverfahren zugänglichen Iodanisolylide synthetisiert (vgl. Abbildung 40).

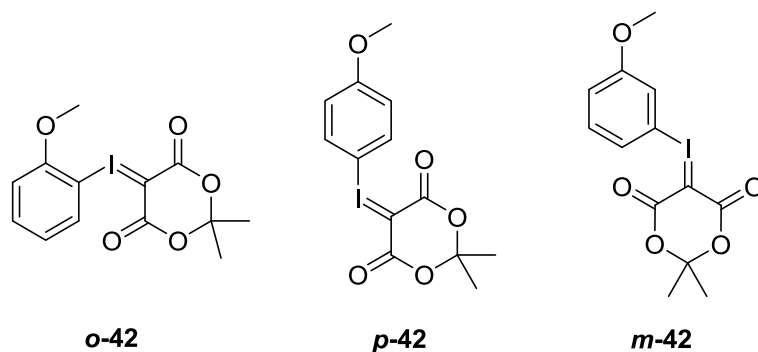


Abbildung 40: Ortho-, meta- und para-substituierte Iodanisolylide.

Durch ein säulenchromatographisches Aufreinigungsverfahren mit einem Laufmittelgemisch aus Ethylacetat und Aceton wurden hier für das *meta*- und das *para*-substituierte Iodanisolylid im Vergleich zur Literatur (26 % bzw. 35 %) höhere Reaktionsausbeuten von 42 % bzw. 41 % erzielt. Auch das *ortho*-Ylid ließ sich auf diese Weise mit einer Ausbeute von 44 % isolieren (Lit.: 59 %). Es handelt sich

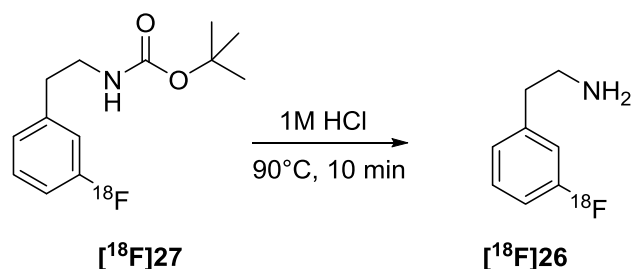
hierbei um Einzelversuche, die hinsichtlich ihrer Ausbeute einen Trend aufzeigen, diesen jedoch nicht quantitativ statistisch sichern.

Die Radiosynthesen mit diesen Verbindungen zu den entsprechenden [ $^{18}\text{F}$ ]Fluoranisolderivaten erfolgte analog zur Literatur<sup>68</sup>. Über das bereits in Kapitel 3.1.5 verwendete HPLC-Trennverfahren wurden die kommerziell erhältlichen Fluoranisolderivate getrennt eluiert.

Mit jedem Vorläufer wurden jeweils drei Markierungsversuche durchgeführt. Durchschnittlich entstanden nach der Radiosynthese mit **o-42**, **m-42** und mit **p-42** 40 %, 20 % bzw. 25 % RCA des jeweiligen [ $^{18}\text{F}$ ]Fluoranisolderivats. In keinem Fall konnte allerdings eine Isomerenbildung beobachtet werden. Die Versuchsbedingungen unterschieden sich von der Literatur allerdings nur in der Bereitstellung des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids, welches dort über eine Elektrodeposition aufgereinigt wurde. Erst im Anschluss an eine Reproduktion der Literaturergebnisse unter identischen Bedingungen kann geklärt werden, ob möglicherweise das bei der Elektrodeposition des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids entstehende Formiat und Acetat<sup>28</sup> mitverantwortlich für die fehlende Regioselektivität waren.

Trotz des Ausbleibens einer Isomerenbildung im Falle der Anisolderivate wurde diese Untersuchung auch für die Bildung des [ $^{18}\text{F}$ ]**27** durchgeführt. Die HPLC-Methode zur Analyse von [ $^{18}\text{F}$ ]**27** ermöglichte eine Unterscheidung der *ortho*-, *meta*- und *para*-Derivate jedoch nicht, was mit der sterisch anspruchsvollen Boc-Funktion zusammenhing. Die Polaritätsunterschiede, nur verursacht durch die veränderte Position des Fluoratoms am Aromaten, sind zu niedrig, um nach isokratischen HPLC-Verfahren eine Trennung der Positionsisomere zu ermöglichen. Aus diesem Grund wurde für das 2-, 3- und 4-Fluorphenylethylamin ein Gradientenverfahren entwickelt, welches die Trennung und damit den eindeutigen Nachweis der unterschiedlich substituierten Verbindungen erlaubt. Für den Ausschluss einer Isomerenbildung musste dazu nach der Radiosynthese von [ $^{18}\text{F}$ ]**27** eine Entschützung zu [ $^{18}\text{F}$ ]**26** erfolgen (vgl. Schema 51).

Es konnte mithilfe des HPLC-Gradientenverfahrens gezeigt werden, dass bei der  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung des eingesetzten Vorläufers **24** und der anschließenden Entschützung zu [ $^{18}\text{F}$ ]**26** unabhängig von der Substitution unter den in dieser Arbeit angewendeten Bedingungen keine Isomere entstehen.



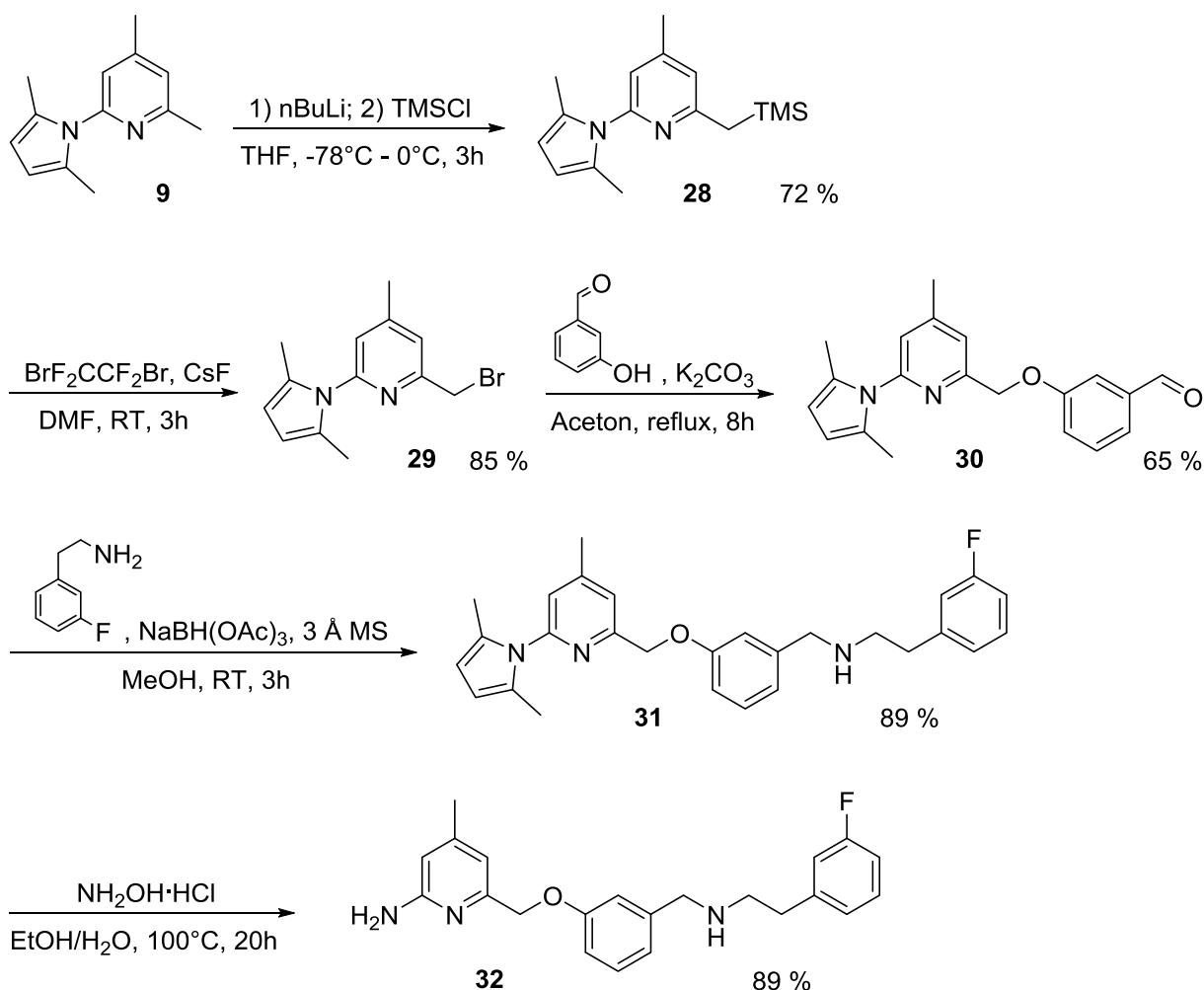
Schema 51: Darstellung von [<sup>18</sup>F]26 über die saure Hydrolyse von [<sup>18</sup>F]27.

Auf der Basis dieser Ergebnisse wurde ein Aufbausyntheseverfahren zur Darstellung des gewünschten nNOS-Inhibitors entwickelt. Dazu wurde zunächst die Referenzverbindung des nNOS-Inhibitors hergestellt.

### 3.4.2 Darstellung der HPLC-Referenzverbindung

Zur Darstellung der Referenzverbindung wurde nach der in der Literatur beschriebenen Synthese vorgegangen.<sup>190</sup> Ausgehend vom Pyrrol-geschützten Aminopyridin **9** wird nach Lithiierung und anschließender Behandlung mit Trimethylsilylchlorid mit einer Ausbeute von 72 % zunächst Verbindung **28** hergestellt (vgl. Schema 52). Nach Bromierung zu **29** wird durch nukleophile Addition mit 3-Hydroxybenzaldehyd Verbindung **30** erzeugt, welche über Tage stabil ist und dann erneut säulenchromatographisch aufgereinigt werden muss, bevor sie über eine reduktive Aminierung zum Pyrrol-geschützten nNOS-Inhibitor **31** umgesetzt wird. Nachdem die Ausbeute für die reduktive Aminierung nach Literaturbedingungen teilweise unter 50 % lag (Lit.: 64 %) und sich ein dünnschichtchromatographisch beobachtetes, unpolares Nebenprodukt als die Imin-Zwischenstufe erwies, wurde ein protisches Lösungsmittel statt DCE zur Verstärkung der reduktiven Bedingungen eingesetzt. Auf diese Weise ließ sich die Ausbeute auf 89 % steigern. Die darauffolgende Entschützung führte zum gewünschten nNOS-Inhibitor, der hier als Referenzverbindung zur Identifizierung der radiofluorierten Zielverbindung dient.

Im Folgenden wird das Radiosynthesekonzept, das zur Darstellung des radiofluorierten NOS-Liganden verwendet wurde, vorgestellt.



Schema 52: Syntheschema zur Darstellung der HPLC-Referenzverbindung **32**.

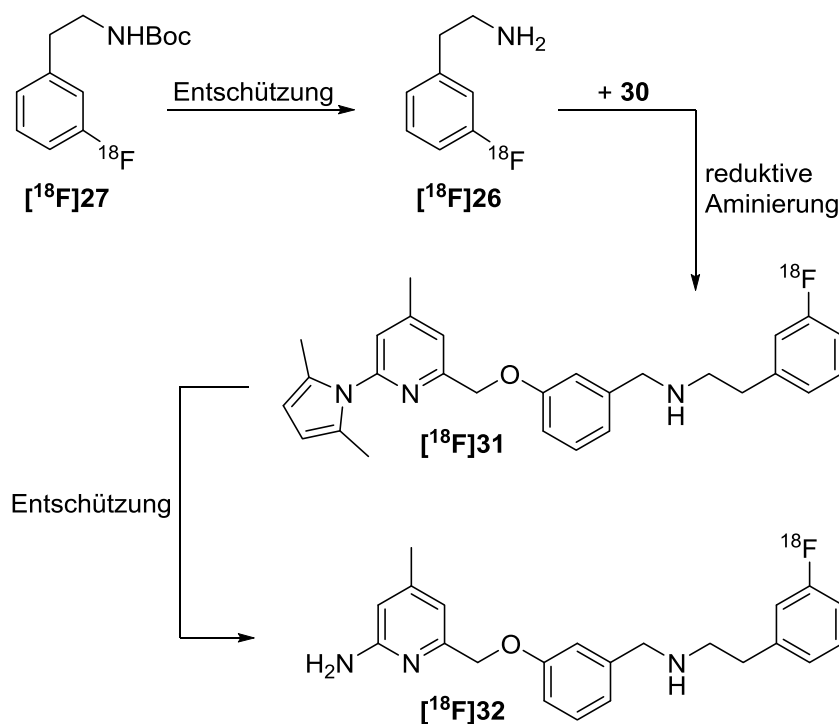
### 3.4.3 Radiosynthesekonzept zur Aufbausynthese des $^{18}\text{F}$ -markierten nNOS-Inhibitors [ $^{18}\text{F}$ ]**32**

Ausgehend von der Zwischenstufe [ $^{18}\text{F}$ ]**27**, welches über die Radiofluorierung des Iodoniumylids **24** zugänglich ist, musste zunächst die Boc-Schutzgruppe über eine saure Hydrolyse entfernt werden (vgl. Schema 53). Dazu konnte jedoch keine wässrige HCl-Lösung verwendet werden, da die Entfernung des Lösungsmittels zu viel Zeit in Anspruch nehmen würde. Für eine Aminierung musste [ $^{18}\text{F}$ ]**26** in Form des Amins vorliegen, sodass eine zwischenzeitige Titration unumgänglich war. Damit das Lösungsmittelvolumen so klein wie möglich gehalten werden konnte, eignete sich für die Entschützung daher eine Lösung aus HCl in Dioxan. Dieses Lösungsmittel ließ sich leicht eindampfen und ermöglichte somit eine kurze Gesamtsynthesedauer.



Für die anschließende reduktive Aminierung sind Reaktionsbedingungen nach dem Vorbild der Synthese von **31** vorgesehen. Das Amin wurde in Methanol aufgenommen und in Anwesenheit des Aldehyds **30** nach Zugabe von Natriumtri-acetoxyborhydrid zu Verbindung **[<sup>18</sup>F]31** umgesetzt. Die anschließende Entschützung sollte mit einem neuartigen, mikrowellengestützten Verfahren gelingen.

Die Pyrrol-Schutzgruppe ist stabil gegenüber stark basischen Bedingungen und auch gegenüber starken Reduktionsmitteln, kann jedoch im Falle der 2-Aminopyridine erst nach langem Erhitzen mit einem Überschuss an Hydroxylaminhydrochlorid entfernt werden. *Walia* et al. entwickelten daher neue Methoden speziell für die Schützung und Entschützung von 2-Aminopyridinderivaten.<sup>236</sup> Mit einem mikrowellengestützten Verfahren wurden die untersuchten Derivate deutlich schneller und mit vergleichbaren Ausbeuten wie mit der herkömmlichen Erhitzung im Ölbad entschützt.



Schema 53: Radiosynthesekonzept für die Darstellung von **[<sup>18</sup>F]32**.

In Einzelversuchen wurden zu jedem der drei Aufbausyntheseschritte Voruntersuchungen durchgeführt, um geeignete Reaktionsparameter im Hinblick auf die spätere Aufbausynthese zum nNOS-Inhibitor zu finden. So stellte sich heraus, dass eine quantitative Entschützung von **27** mit 4 M HCl in Dioxan möglich ist. Schon während der Entschützung kann ohne negative Auswirkungen auf die Ausbeute von **[<sup>18</sup>F]26** mit der Entfernung des Lösungsmittels unter vermindertem Druck begonnen werden. Die anschließende reduktive Aminierung wurde zunächst mit Benzaldehyd

getestet. In Anwesenheit von 5 mg (0,05 M) Natriumtriacetoxyborhydrid wurde mittels Radio-HPLC neben dem gewünschten Produkt [ $^{18}\text{F}$ ]34 auch das Imin-Intermediat [ $^{18}\text{F}$ ]33 identifiziert (vgl. Abbildung 41).

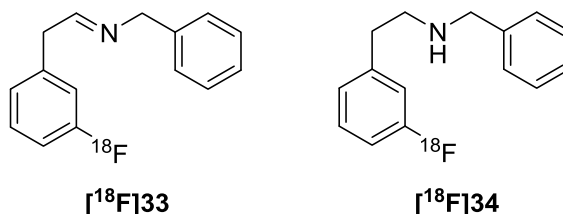


Abbildung 41: Syntheseprodukte nach der testweisen reduktiven Aminierung von [ $^{18}\text{F}$ ]26 mit Benzaldehyd.

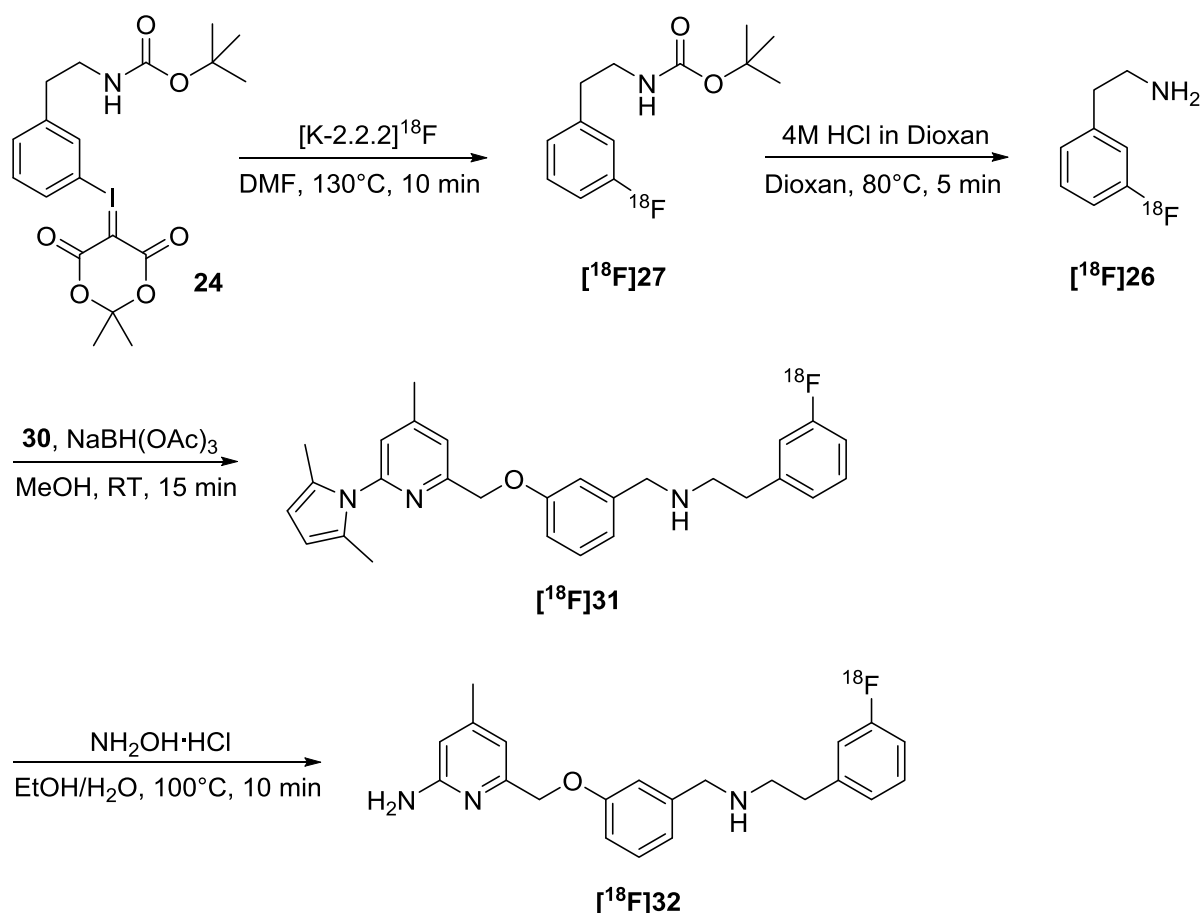
Auf diese Weise wurde das Amin [ $^{18}\text{F}$ ]26 erfolgreich mit dem Aldehyd verknüpft. Aufgrund der unvollständigen Reduktion des Imins zum sekundären Amin [ $^{18}\text{F}$ ]34 wurde für die Aufbausynthese des nNOS-Liganden jedoch eine höhere Menge (30 mg, 0,28 M) des Reduktionsmittels zugrundegelegt.

Diese Voruntersuchungen untermauerten das angestrebte Synthesekonzept und stellten nun die Basis für die folgende Aufbausynthese zum  $^{18}\text{F}$ -markierten nNOS-Inhibitor dar.

#### 3.4.4 Realisierung der Aufbausynthese des nNOS-Inhibitors 6-((3-((3-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorphenylethylamino)methyl)phenoxy)methyl)-4-methylpyridin-2-amin [ $^{18}\text{F}$ ]32

Zur Darstellung des nNOS-Inhibitors 6-((3-((3-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorphenylethylamino)methyl)phenoxy)methyl)-4-methylpyridin-2-amin [ $^{18}\text{F}$ ]32 wurde basierend auf den bisherigen Ergebnissen eine vollständige Aufbausynthese durchgeführt (vgl. Schema 54).

Nach der Trocknung und Aktivierung des n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids erfolgte die Umsetzung mit dem Iodoniumylid **24**. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch zur Entfernung ionischer Bestandteile und polaren Verunreinigungen aus der Umsetzung mit dem Ylid chromatographisch aufgereinigt. Das Radiosyntheseprodukt wurde zwischenzeitlich radiochromatographisch untersucht (vgl. Abbildung 42). Die Elution des auf einer C-18-Kartusche fixierten Produkts [ $^{18}\text{F}$ ]27 erfolgte, angelehnt an die Bedingungen der Entschüttung, mit Dioxan und verlief wie die Fixierung nahezu quantitativ.



Schema 54: Syntheschema der Darstellung des nNOS-Inhibitors **[<sup>18</sup>F]32**.

Nach der Entschützung und Alkalisierung wurde das freie Amin mit Dichlormethan aus der wässrigen Phase extrahiert und zur Befreiung von in der wässrigen Phase gelösten ionischen Bestandteilen über eine Natriumsulfatkartusche getrocknet. Vom Eluat wurde ein Aliquot zur Quantifizierung entnommen. Ausgehend von der Startaktivität wurden ca. 60 % der Aktivität in Form des Amins **[<sup>18</sup>F]26** für die anschließende reduktive Aminierung isoliert. Der Vergleich der  $\gamma$ -Chromatogramme zeigt außerdem, dass die Entschützung quantitativ erfolgt (vgl. Abbildung 42).

In Anwesenheit des Aldehyds **30** wurde das Amin **[<sup>18</sup>F]26** mit Natriumtriacetoxymborhydrid in Methanol zum Pyrrol-geschützten nNOS-Liganden **[<sup>18</sup>F]31** umgesetzt. Nach 15 min bei RT wurde das Produktgemisch alkalisiert und mit Dichlormethan extrahiert. Eine Überprüfung mittels Radio-DC weist hier für das gewünschte Produkt eine radiochemische Ausbeute von etwa 40 % auf (vgl. Abbildung 42).

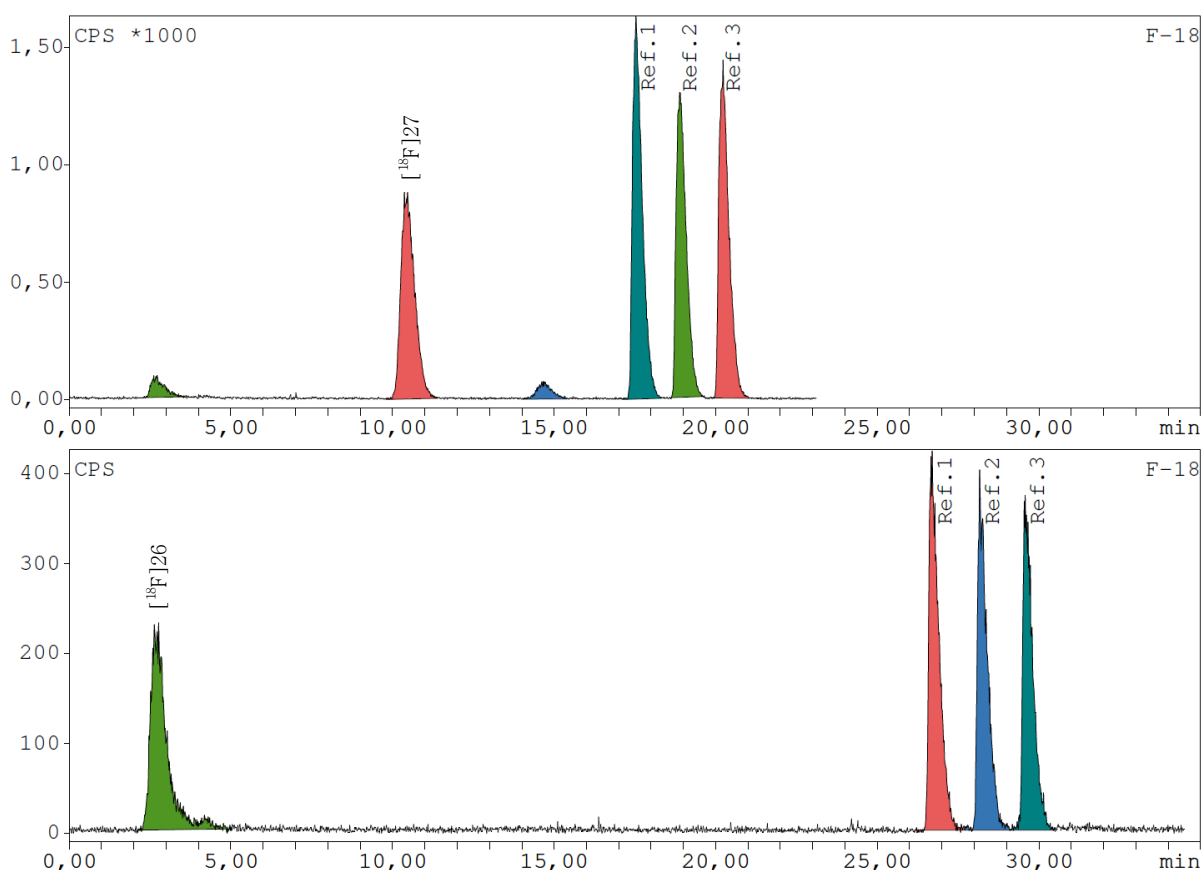


Abbildung 42:  $\gamma$ -Chromatogramme der Produktgemische nach der Radiofluorierung von **24** zu  $[^{18}\text{F}]\text{27}$  (oben) nach der Entschützung von  $[^{18}\text{F}]\text{27}$  zu  $[^{18}\text{F}]\text{26}$  (unten) (HPLC-System 1, Methode 12).

Nach Entfernen des Lösungsmittels folgte die Abspaltung der Pyrrol-Schutzgruppe. Mit  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$  in Ethanol und Wasser wurde das Reaktionsgemisch in einer Mikrowelle bei  $100\text{ }^\circ\text{C}$  für 10 min bei einer maximalen Leistung von 50 W bestrahlt. Zur Sicherung der Ergebnisse und zur zweifelsfreien Identifizierung der Zielverbindung wurde das Produkt nach der Entschützung alkalisiert und mehrfach sowohl mittels Radio-HPLC (vgl. Abbildung 43) als auch mittels Radio-DC (vgl. Abbildung 44 und Abbildung 45) nachgewiesen.

Die bei diesem Einzelversuch erreichte radiochemische Gesamtausbeute liegt bei etwa 15 %. Obschon es sich hierbei um einen Einzelversuch handelte, wurde basierend auf den durchgeführten Voruntersuchungen dennoch radioanalytisch zweifelsfrei die erfolgreiche Darstellung des nNOS-Liganden 6-((3-((3- $[^{18}\text{F}]\text{Fluorphenylethylamino)methyl)phenoxy)methyl)-4-methylpyridin-2-amin$   $[^{18}\text{F}]\text{32}$  nachgewiesen.

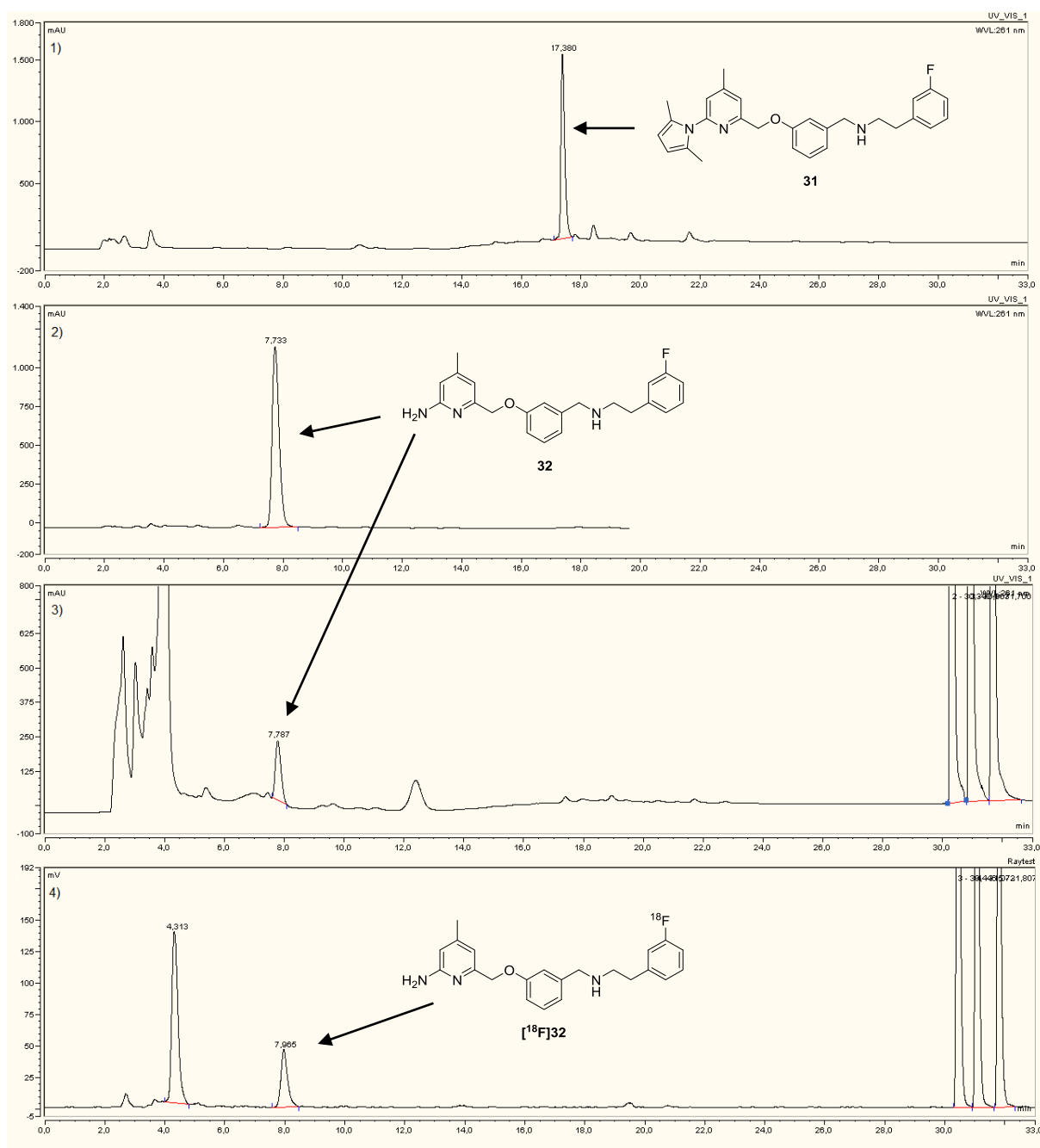
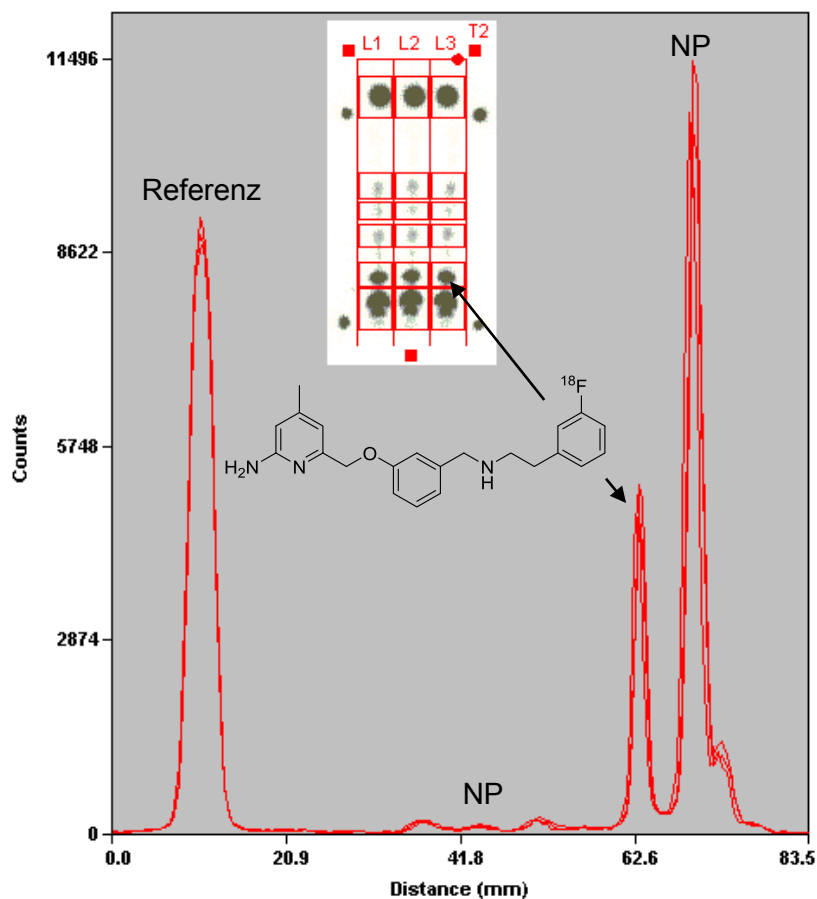
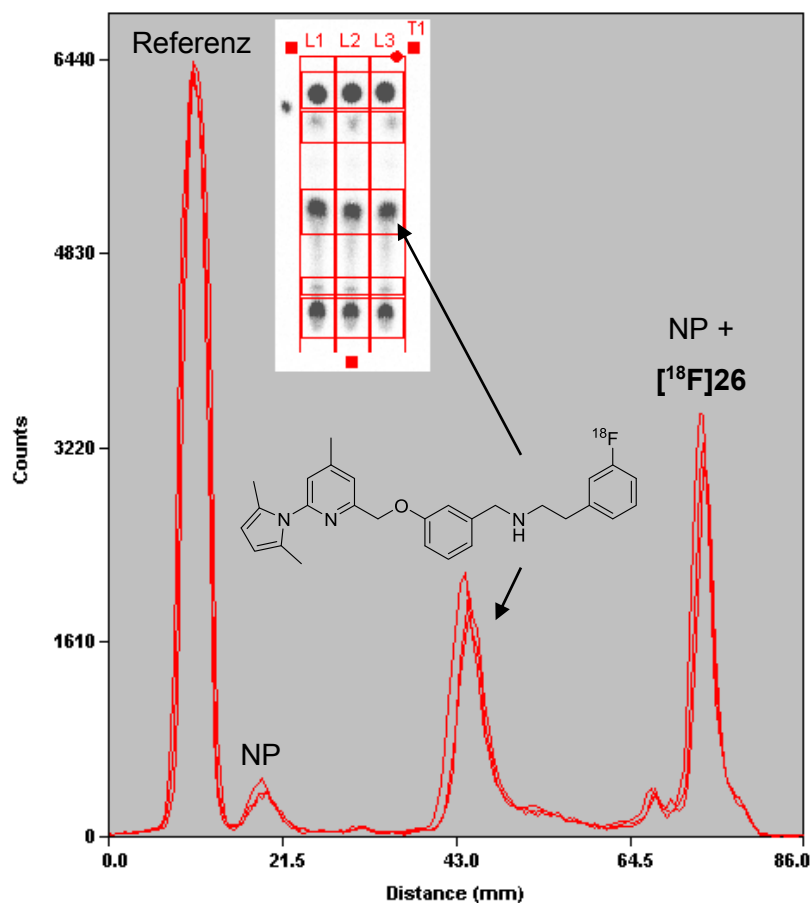


Abbildung 43: HPLC-Chromatogramme zur Identifizierung des nNOS-Inhibitors  $[^{18}\text{F}]\mathbf{32}$  nach der Aufbausynthese. Die UV-Chromatogramme 1) und 2) zeigen jeweils die untersuchten Referenzverbindungen **31** und **32**. Das UV-Chromatogramm 3) und das entsprechende  $\gamma$ -Chromatogramm 4) stellen das Produktspektrum nach der mikrowellen-gestützten Pyrrol-Entschützung dar (HPLC-System 2, Methode 16).



### 3.4.5 Zusammenfassung der Ergebnisse der Untersuchungen zur Radio-synthese des nNOS-Inhibitors [ $^{18}\text{F}$ ]32

Der potentielle nNOS-Inhibitor **32** wurde ausgehend von einem Iodoniumylidvorläufer über eine Aufbausynthese trägerarm radiofluoriert. Der dazu nötige Boc-geschützte Ylid-Vorläufer **24** wurde zu 43 % nach einer verbesserten Aufreinigungsmethode isoliert und charakterisiert. Ein flüssigchromatographisches Trennverfahren konnte das zeitaufwendige Ausfällen der Ylide ersetzen.

Die trägerarme Radiofluorierung des Iodoniumylids lieferte nach einigen Optimierungen das Boc-geschützte 3- $^{18}\text{F}$ Fluorphenylethylamin mit einer RCA von 79 %. Zur Beurteilung einer möglichen Isomerenbildung während der nukleophilen Substitutionsreaktion von Iodoniumyliden mit n.c.a.  $^{18}\text{F}$ Fluorid wurden neben den benötigten Vorläuferverbindungen auch die entsprechenden  $^{19}\text{F}$ -Referenzsubstanzen hergestellt und charakterisiert sowie ein leistungsfähiges HPLC-Verfahren entwickelt. Die Radioanalytik bewies eine regioselektive Fluorierungsreaktion für alle getesteten Substanzen, was eine isomerenreine Analogmarkierung des nNOS-Inhibitors ermöglichte.

Zur eindeutigen Identifizierung des  $^{18}\text{F}$ -markierten Zielliganden wurde nach der literaturbekannten Synthese auch die  $^{19}\text{F}$ -Referenzverbindung **32** in sechs Stufen hergestellt und charakterisiert, wobei die Ausbeute der reduktiven Aminierung durch Verwendung eines protischen Lösungsmittels erheblich verbessert werden konnte.

Nach quantitativer Entschützung des durch Radiofluorierung vom Ylid-Vorläufer erhaltenen Radiofluorierungsproduktes wurde das Synthon [ $^{18}\text{F}$ ]26 in hohen Ausbeuten für eine Aufbausynthese bereitgestellt. Eine reduktive Aminierung mit dem Aldehyd **30** und dem isolierten Amin [ $^{18}\text{F}$ ]26 lieferte reproduzierbar das entsprechende Kupplungsprodukt, den Pyrrol-geschützten nNOS-Inhibitor [ $^{18}\text{F}$ ]31, in Ausbeuten zwischen 6 und 40 %. Die Pyrrol-Schutzgruppe mit einem Mikrowellenverfahren effektiv entfernt, sodass mit dieser Synthesestrategie erstmals der potentielle, isoformselektive nNOS-Ligand **32** radiofluoriert wurde.

Für eine weitere pharmakologische Bewertung des  $^{18}\text{F}$ -markierten nNOS-Inhibitors wäre eine alternative Direktmarkierung jedoch wünschenswert. Sie würde das Radio-syntheseverfahren deutlich vereinfachen und hätte verschiedene Vorteile im Hinblick auf eine spätere Automatisierung.

### 3.5 Untersuchungen zur Darstellung des nNOS Inhibitors [ $^{18}\text{F}$ ]32 über eine Kupfer-vermittelte Direktmarkierung

Erst kürzlich sind Cu(II)-vermittelte Reaktionen von organischen Boronsäureestern mit [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid in den Fokus der Radiochemie getreten (vgl. Kapitel 1.2.3). Diese  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsmethode wurde auf die unterschiedlichsten aromatischen Systeme adaptiert und toleriert eine Vielzahl von funktionellen Gruppen, womit sie sich prinzipiell zur direkten Darstellung  $^{18}\text{F}$ -markierter Moleküle eignet, die wegen ihrer Komplexität bisher nur über mehrstufige Aufbausynthesen zugänglich sind.

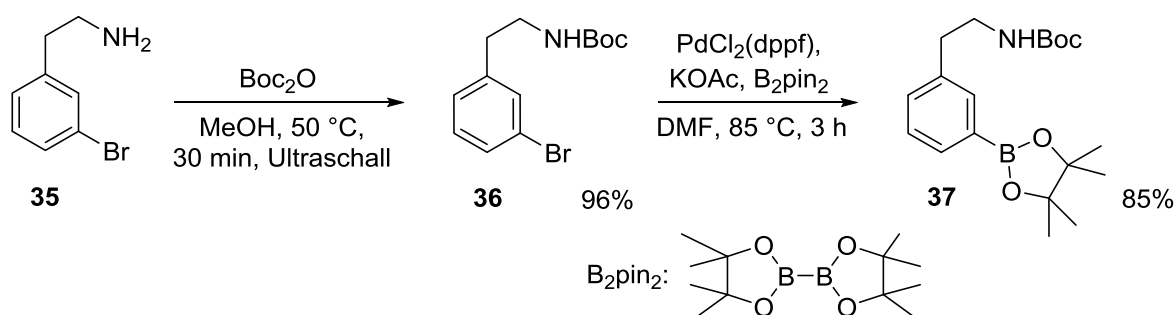
Die Cu-vermittelte Markierungsmethode bot deshalb ein hohes Potential, möglicherweise die bestehende Aufbausynthese des  $^{18}\text{F}$ -markierten nNOS-Inhibitors [ $^{18}\text{F}$ ]32 deutlich zu vereinfachen und damit die Gesamtsynthesedauer zu verkürzen sowie die benötigte Startaktivität zu minimieren.

Anhand einer Modellverbindung wurde zunächst in einigen Vorversuchen ein geeigneter Markierungsvorläufer hergestellt, welcher anschließend mit n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid umgesetzt wurde und somit Rückschlüsse auf die Eignung der neuartigen  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsmethode hinsichtlich der Direktmarkierung des nNOS-Inhibitors zuließ.

#### 3.5.1 Voruntersuchungen zur Kupfer-vermittelten $^{18}\text{F}$ -Markierung von Arylboronsäureestern

Zur Bewertung der Eignung dieser Markierungsmethode wurde zunächst das von *Tredwell et al.*<sup>52</sup> beschriebene Verfahren auf ein geeignetes Modellmolekül adaptiert. Der Boc-geschützte Boronsäureester **37** simuliert in ausreichendem Maße die bei der Radiofluorierung maßgeblichen elektronischen Eigenschaften des Aromaten, sodass bei erfolgreicher Markierung der Modellverbindung eine Übertragung auf die Darstellung des eigentlichen Zielmoleküls wahrscheinlich war. Ausgehend von 3-Bromphenylethylamin wurde daher zunächst eine Boc-Schutzgruppe eingeführt, bevor über eine Borylierung die gewünschte Abgangsgruppe erzeugt wurde (vgl. Schema 55).





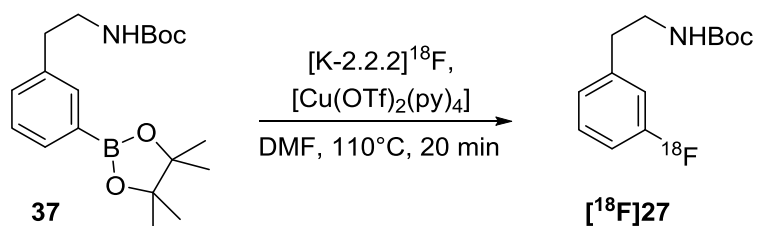
Schema 55: Darstellung des Modellvorläufers **37** für erste Markierungsversuche.

Das Boc-geschützte Bromid **36** wurde mit einer Ausbeute von 96 % aus dem korrespondierenden Amin **35** erhalten. Nach einer Miyaura-Borylierung<sup>52,237</sup> in Anwesenheit von Bis(pinakolato)diboron ( $\text{B}_2\text{pin}_2$ ), Kaliumacetat und katalytischer Mengen des Palladiumkomplexes [1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen]dichloropalladium(II) ( $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ ) wurde der Markierungsvorläufer **37** mit einer Ausbeute von 85 % isoliert. Die Reaktion verläuft nach einem bekannten Katalysezyklus, wobei die hohe Sauerstoffaffinität des Bor-Atoms sowie die Bildung eines Acetato-Palladium-Komplexes einen begünstigenden Einfluss auf die Reaktionsrate haben.<sup>238</sup>

Für eine Radiosynthese wurde auch der Kupferkomplex nach Haynes et al.<sup>239</sup> ausgehend von Kupfer(II)triflat und Pyridin hergestellt. Nach mehrmaligem Umkristallisieren wurde der Komplex mit einer Ausbeute von 33 % isoliert, dessen Reinheit elementaranalytisch bestätigt wurde. Der auf diese Weise in hoher Ausbeute erhaltene Markierungsvorläufer **37** wurde anschließend nach der literaturbekannten Markierungsmethode mit dem hergestellten Kupferkomplex umgesetzt.

### Voruntersuchungen zur Radiosynthese der Modellverbindung [ $^{18}\text{F}$ ]**27**

Für die ersten Radiosyntheseversuche wurden die Parameter der Publikation von Tredwell et al.<sup>52</sup> zugrundegelegt (vgl. Schema 56). Die  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsprozedur erfolgte demnach in zwei Stufen, wobei die azeotrope Trocknung und die anschließende Radiofluorierung in zwei unterschiedlichen Gefäßen stattfanden.



Schema 56: Kupfer-vermittelte nukleophile  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung des Modellvorläufers **37**.

Nach der azeotropen Trocknung wurde das Fluorierungsreagenz mit 300  $\mu\text{L}$  Acetonitril angelöst. Von diesem Gemisch wurde ein Aliquot entnommen und in ein zweites Reaktionsgefäß überführt, in dem zuvor der Vorläufer **37** mit dem Kupferkomplex vorgelegt worden war. Erst dann wurde das Lösungsmittel DMF hinzugefügt. Nach einer Reaktionszeit von 20 min bei 110 °C wurde das Produkt [ $^{18}\text{F}$ ]**27** radiochromatographisch mit einer Ausbeute von durchschnittlich 34 % identifiziert. Diese Ausbeute bezog sich jedoch nur auf den Schritt der Radiofluorierung. Bei der Entnahme des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid-Aliquots fiel auf, dass ein erheblicher Teil der eingesetzten Aktivität nicht aus dem Reaktionsgefäß isoliert werden konnte. Die Aktivitätskonzentration der entnommenen Probe lag meist 60 % unter dem erwarteten Wert, der sich auf die eingesetzte Startaktivität vor der azeotropen Trocknung bezog. Nur wenig des aktivierten Fluorids ließ sich mit Acetonitril aufnehmen, sodass insbesondere bei diesem Schritt ein erheblicher Aktivitätsverlust auftrat. Folglich war die nach der Radiosynthese von [ $^{18}\text{F}$ ]**27** beobachtete Ausbeute, sofern man die Aktivitätsverluste im ersten Syntheseschritt mit einbezieht, um ein vielfaches niedriger.

Zusammenfassend wurde die Kupfer-vermittelte Radiofluorierung erfolgreich auf die Markierung von [ $^{18}\text{F}$ ]**27** adaptiert, sie bedurfte jedoch hinsichtlich der Reaktionsführung und der radiochemischen Ausbeute einiger Optimierungen.

### ***Entwicklung eines praktikablen Eintopfverfahrens für die Kupfer-vermittelte Radiofluorierung am Beispiel der Modellverbindung***

Nachdem das Zweitopfverfahren erfolgreich das gewünschte Produkt lieferte, wurden verschiedene Tests zur Reaktionsdurchführung ausgeführt. Beispielsweise konnte kein Produkt beobachtet werden, wenn der Vorläufer **37** und der Kupferkomplex gelöst in DMF direkt in das Gefäß mit dem getrockneten und aktivierten [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid überführt wurde. Diese Vorgehensweise hätte große Vorteile, da sie die Bereitstellung der vollständigen Startaktivität für die kommende Radiofluorierungsreaktion ermöglichen würde und sich außerdem als Eintopfverfahren leicht automatisieren ließe.

Ein Eintopfverfahren wurde von Tredwell et al.<sup>52</sup> im Zusammenhang mit der Darstellung des 6- $^{18}\text{F}$ Fluor-L-DOPA beschrieben (vgl. Kapitel 1.2.3). Hier diente ein kommerziell erhältliches mikrofluidisches Modul zur automatisierten Trocknung und Aktivierung des n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids. Außerdem wurden dabei deutlich größere

Lösungsmittelvolumina und um ca. 20 % geringere Mengen des Aktivatorsystems eingesetzt, sodass für weitere Markierungsversuche zunächst die Salzkonzentration während der Radiofluorierung verringert wurde.

Ausgehend von einer 1:10 Verdünnung der Lösung aus 1 mL Acetonitril, 10 mg Kryptofix® 2.2.2 und 14 µL einer 1 M Kaliumcarbonat-Lösung wurden 30 MBq [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid getrocknet, bevor der Kupferkomplex und der Vorläufer, gelöst in DMF, hinzugefügt wurden. Mit diesem Eintopfverfahren wurden nach 20 min bei 110 °C radiochemische Ausbeuten von bis zu 17 % erreicht.

Die weitere Verdünnung der Aktivatorlösung bewirkte eine deutliche Steigerung der Ausbeute. So konnte das gewünschte Produkt mit einer 1:100 Verdünnung in durchschnittlichen radiochemischen Ausbeuten um 52 % (n = 3) dargestellt werden (vgl. Abbildung 46).

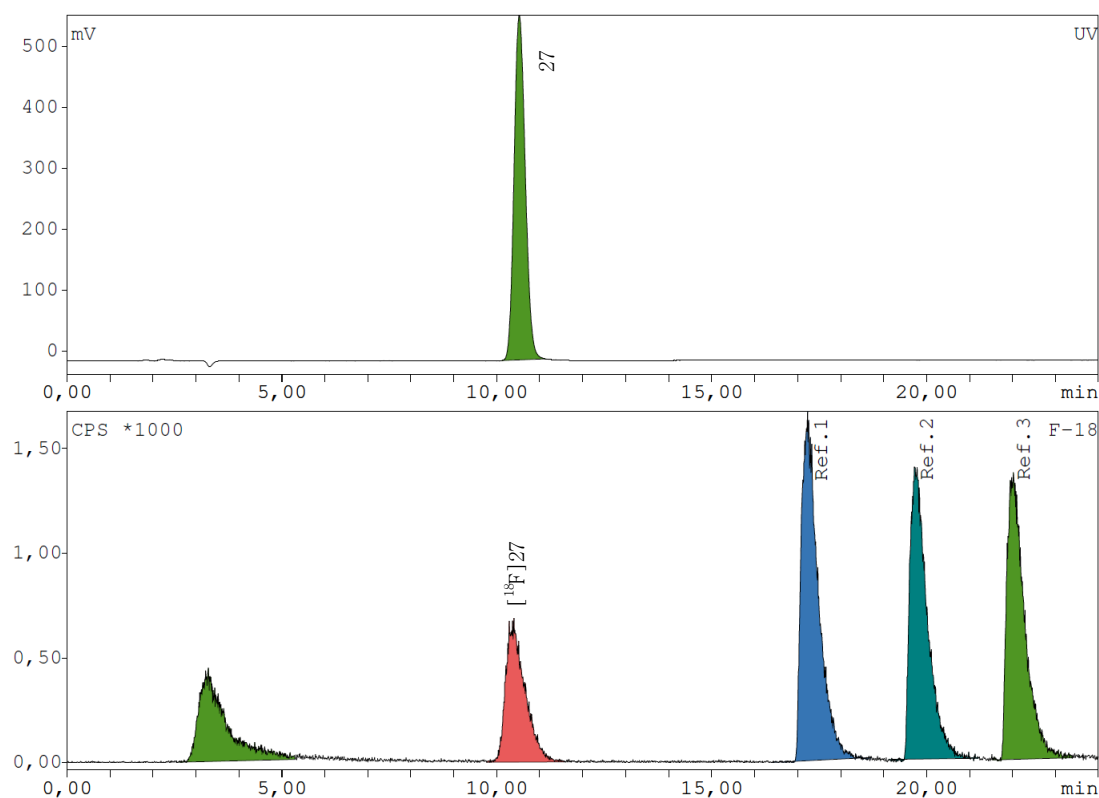


Abbildung 46: UV-Chromatogramm der Referenzverbindung **27** (oben) und  $\gamma$ -Chromatogramm der Produktlösung (unten) nach Kupfer-vermittelter Radiosynthese mit 1:100 Verdünnung des Aktivatorsystems (HPLC-System 1, Methode 12).

Mit den Anionenaktivator Triethylammoniumhydrogencarbonat ( $\text{TEAHCO}_3$ ) wurden insignifikant höhere radiochemische Ausbeuten erreicht, wobei auch dieses Salz in

einer geeigneten Verdünnung vorliegen musste. Die Verwendung von 15  $\mu\text{L}$  einer 0,01 mM  $\text{TEAHCO}_3$ -Lösung führte zu einer RCA von durchschnittlich 54 % ( $n = 3$ ).

Zusammenfassend ausgedrückt hängt die radiochemische Ausbeute der Kupfer-vermittelten Radiosynthese von **[ $^{18}\text{F}$ ]27** maßgeblich von der Menge des zur Anionenaktivierung eingesetzten Salzes ab. Je geringer die Salzkonzentration desto höher waren die  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsausbeuten.

Der überwiegende Teil kommerziell genutzter Syntheseapparaturen sieht eine Nuklidaufreinigung mithilfe eines Anionenaustauschersystems vor. Mit sogenannten QMA-Kartuschen wird zunächst das [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid aus der wässrigen Targetlösung fixiert und anschließend zur Trocknung mit einem Gemisch aus Acetonitril, Kryptofix® 2.2.2 und Kaliumcarbonat in das Reaktionsgefäß eluiert (vgl. Kapitel 1.2.1). Für eine effiziente Elution des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids ist dabei eine bestimmte Mindestmenge des Aktivatorsystems nötig. Wird jedoch die Elutionslösung und damit insbesondere die Carbonatkonzentration in einem Verhältnis von 1:100 verringert, so kann das Radionuklid nicht mehr vom Anionenaustauscherharz verdrängt werden.

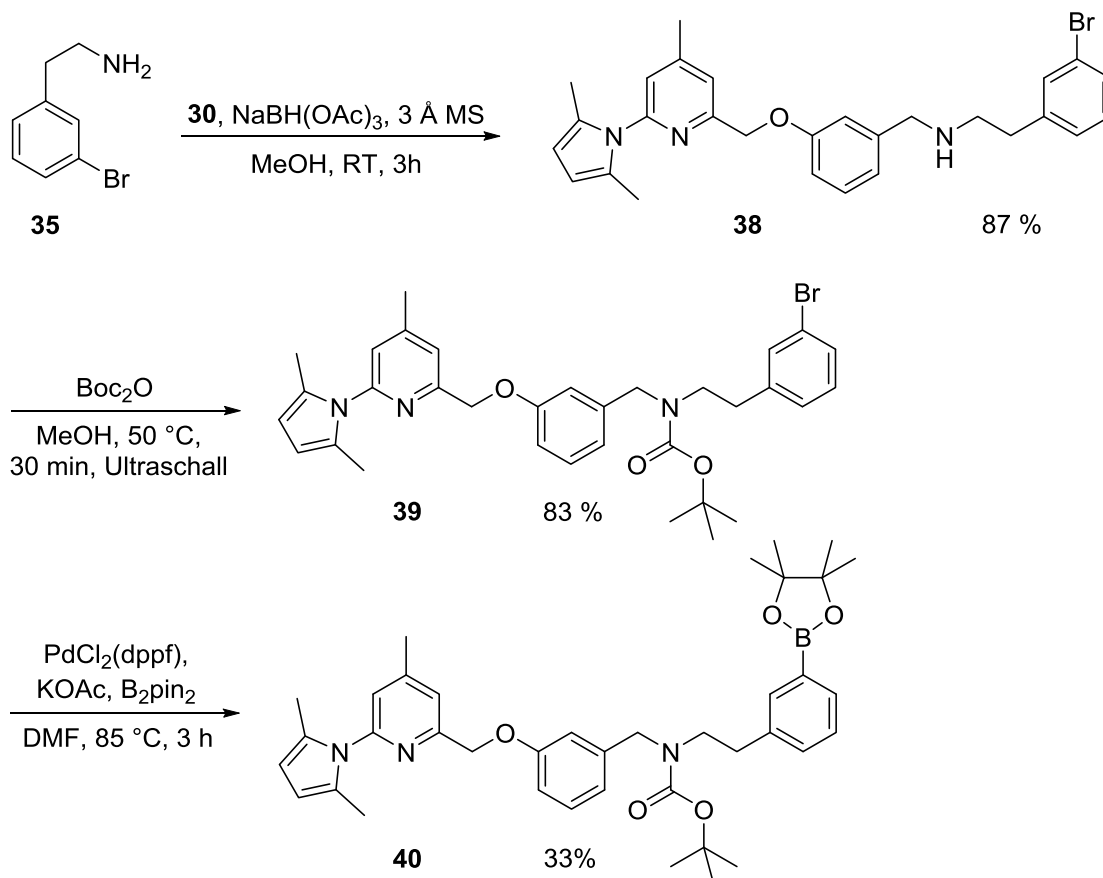
Dieser Umstand muss bei einer zukünftigen Übertragung der Synthesebedingungen auf ein einfaches QMA-basiertes Syntheseverfahren berücksichtigt werden. Alternativ stehen jedoch auch andere Transfertechnologien, wie die Elektrodeposition von [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid mittels Kohlenstoffelektroden zur Verfügung (vgl. Kapitel 1.2.1).

Wie hier gezeigt wurde, eignet sich die Kupfer(II)-vermittelte Radiofluorierung prinzipiell gut zur Darstellung der Testverbindung **[ $^{18}\text{F}$ ]27**. Das Verfahren wurde auf eine Eintopfprozedur verkürzt und eignet sich daher möglicherweise auch zur vereinfachten Darstellung des nNOS-Inhibitors **[ $^{18}\text{F}$ ]32**. Im Folgenden wird zunächst die Synthese des Vorläufers und anschließend die darauf aufbauende Radiosynthese vorgestellt.

### **3.5.2 Darstellung des Radiosynthesevorläufers für die Kupfer-vermittelte $^{18}\text{F}$ -Markierung des nNOS-Inhibitors mittels Arylboronsäureester**

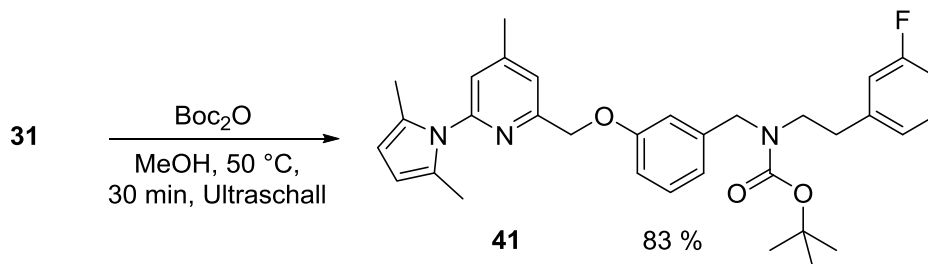
Für die Darstellung eines korrespondierenden Boronsäureester-Vorläufers wurde ein bromiertes oder iodiertes Derivat des nNOS-Inhibitors als Ausgangsverbindung benötigt. Dazu wurde kommerziell erhältliches 3-Bromphenylethylamin mit dem Aldehyd **30** nach dem bereits in Kapitel 3.4.2 erwähnten Verfahren reduktiv zum

Bromid **38** aminiert (vgl. Schema 57). Für die Kreuzkupplung und auch im Hinblick auf die spätere Radiosynthese wurde das sekundäre Amin Boc-geschützt. Mit dem Boc- und Pyrrol-geschützten Bromid **39** wurde anschließend die Palladium-katalysierte Kreuzkupplung durchgeführt, die den gewünschten Boronsäureester mit einer Ausbeute von 33 % lieferte.



Schema 57: Darstellung des Markierungsvorläufers für die Direktmarkierung des nNOS-Inhibitors [ $^{18}\text{F}$ ]**32**.

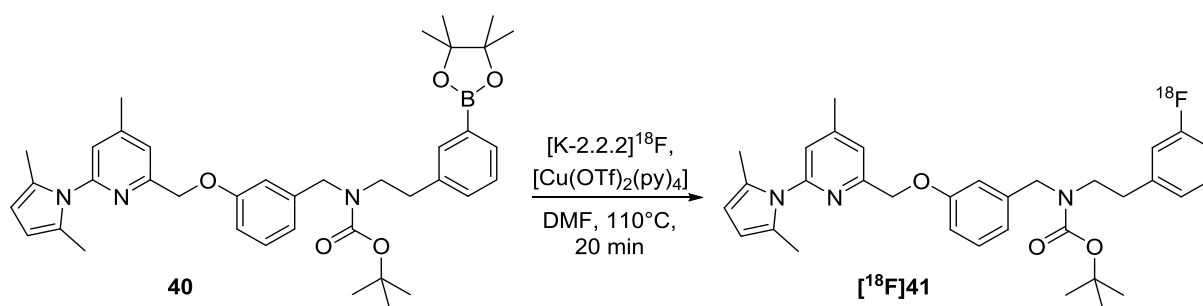
Zur eindeutigen Identifizierung des Radioaktivproduktes wurde ausgehend von der bereits in Kapitel 3.4.2 vorgestellten Verbindung **31** die Pyrrol- und Boc-geschützte Referenzverbindung **41** hergestellt (vgl. Schema 58).



Schema 58: Synthese der Referenzverbindung **41**.

### 3.5.3 Kupfer-vermittelte Radiofluorierung des nNOS-Inhibitors

Nachdem bereits die Aufbausynthese ausgehend von einem Iodoniumylid als Vorläufer eine Analogmarkierung des nNOS-Inhibitors ermöglichte, wurde nun eine Direktmarkierung des Moleküls anhand eines Boronsäureesters als potentielles Markierungsedukt getestet (vgl. Schema 59). Basierend auf den Voruntersuchungen wurde der Boc- und Pyrrol-geschützte Vorläufer **40** über die Reaktion mit dem Kupfer(II)-Komplex zu dem korrespondierenden  $^{18}\text{F}$ -markierten Produkt **[ $^{18}\text{F}$ ]**41** umgesetzt. Eine anschließende Entschützung kann nach dem Vorbild des mikrowellengestützten Verfahrens aus Kapitel 3.4.4 den Zugang zur gewünschten Zielverbindung eröffnen.**



Schema 59: Kupfer(II)-vermittelte  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung des nNOS-Derivats **[ $^{18}\text{F}$ ]**41**.**

Erste Testsynthesen wurden analog zu dem literaturbeschriebenen Zweitopfverfahren durchgeführt, lieferten das gewünschte Markierungsprodukt **[ $^{18}\text{F}$ ]**41** jedoch nur mit einer radiochemischen Ausbeute von etwa 3 %. Die Verringerung der Salzkonzentration bewirkte wie im Falle der Modellverbindung eine deutliche Ausbeute-steigerung, sodass die hier vorgestellte Direktmarkierung des nNOS-Liganden somit in einem ersten Versuch mit einer Ausbeute von 15 % gelang.**

Die Identität des Markierungsproduktes wurde zweifelsfrei mittels Radio-DC und Radio-HPLC durch die Verwendung der Referenzverbindung **41** als interner Standard bewiesen (vgl. Abbildung 47). Folglich ist der  $^{18}\text{F}$ -markierte NOS-Inhibitor auch über eine Kupfer(II)-vermittelte Direktmarkierung zugänglich, was gegenüber der mehrstufigen Aufbausynthese in einer erheblichen Vereinfachung des apparativen Aufwands und in einer deutlichen Verkürzung der Synthesedauer resultiert.

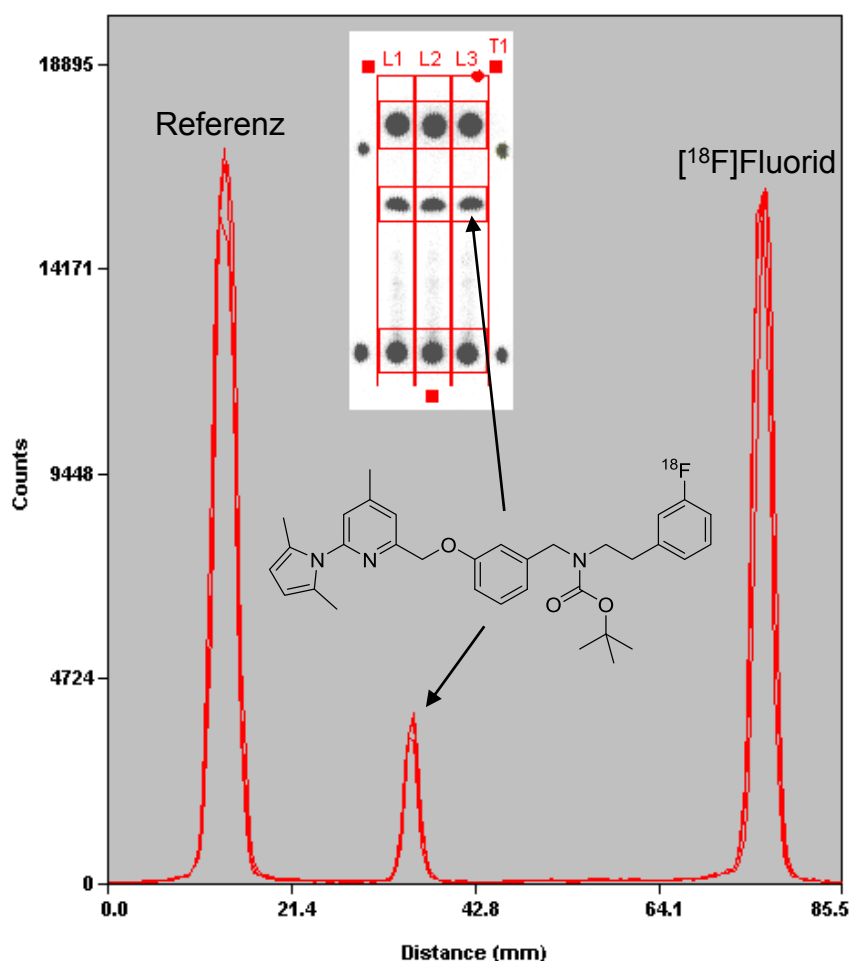


Abbildung 47: Radio-DC-Chromatogramm des Syntheseproduktes  $[^{18}\text{F}]\mathbf{41}$  nach der Direktmarkierung.

### 3.5.4 Untersuchungen zur mikrowellengestützten Entschützung von Verbindung **41**

Die an die Direktmarkierung anschließende Entschützung der Pyrrol-Schutzgruppe und der Boc-Schutzgruppe kann nach *Walia et al.*<sup>236</sup> durch eine Mikrowellenbestrahlung erfolgen. Wie bereits beschrieben, führte diese Methode auch im Falle der Entschützung von  $[^{18}\text{F}]\mathbf{31}$  zum gewünschten Amin. Mit der  $^{19}\text{F}$ -Referenzverbindung **41** wurden daher die erforderlichen Entschützungsbedingungen in Anlehnung an die bekannte Literatur untersucht.

Zur Beurteilung des Produktspektrums und qualitativen Abschätzung der Entschützung wurde ein HPL-chromatographisches Gradientenverfahren entwickelt, mit dem es möglich war, das zu entschützende Edukt **41**, das Zwischenprodukt **31** und das vollständig entschützte Produkt **32** getrennt voneinander zu identifizieren (vgl. Abbildung 48).

Die Entschützung in Anwesenheit von Hydroxylaminhydrochlorid in einer Lösung aus Wasser und Ethanol verlief selbst nach 20 min bei 100 °C unvollständig, sodass diese Art der Energiezufuhr wenig Potential hinsichtlich der Übertragung auf eine Radiosynthese bot.

Eine Mikrowellenbestrahlung in Anwesenheit von ethanolischer Salzsäure verlief ebenfalls unvollständig. Bei maximal 50 W und einer Temperatur von 90 °C über 10 min konnte nur die Boc-Schutzgruppe vollständig entfernt werden. Nach Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 100 °C wurden die besten Entschützungsergebnisse nach einer 10 minütigen Bestrahlung mit max. 50 W erreicht. Dabei wurde das Edukt vollständig umgesetzt und auch das Zwischenprodukt **31** wurde nicht mehr beobachtet (vgl. Abbildung 48).

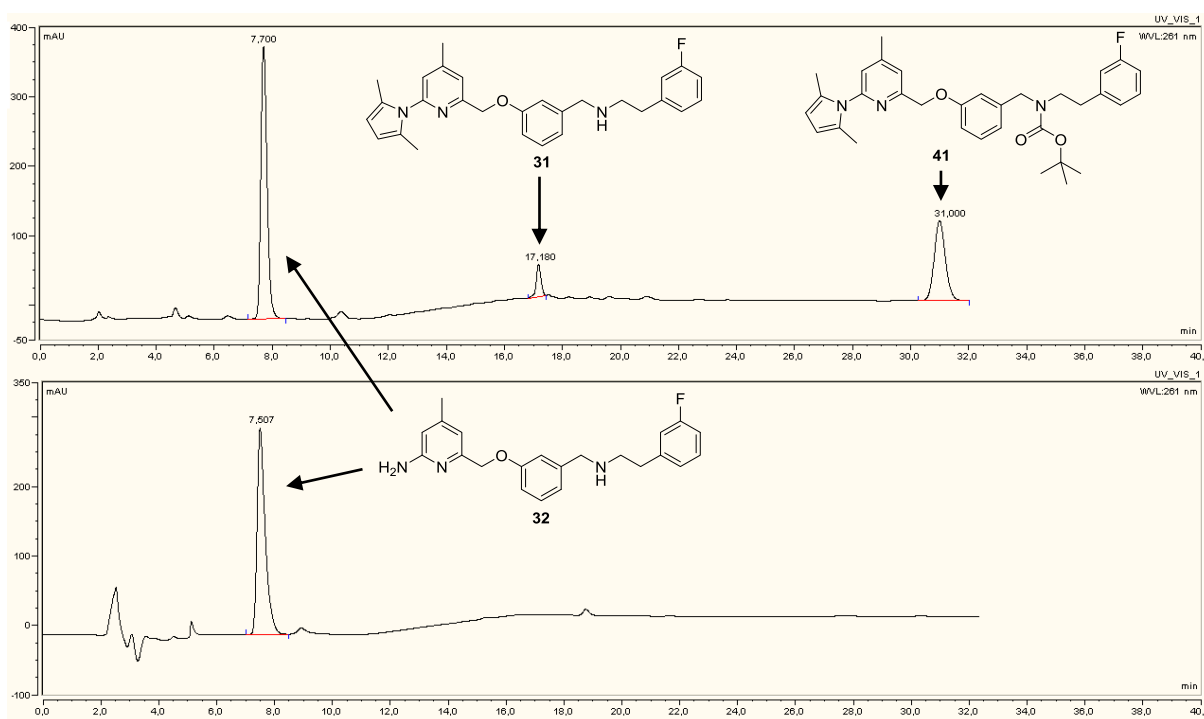


Abbildung 48: UV-Chromatogramme der Produktlösung nach mikrowellengestützter Parallelschützung der Boc- und der Pyrrol-Schutzgruppe der Verbindung **41**. Oben: UV-Chromatogramm der Referenzsubstanzen; unten: UV-Chromatogramm nach 10-minütiger Mikrowellenbestrahlung mit maximal 50 W bei 100 °C (HPLC-System 2, Methode 17).

Folglich eignet sich das bereits für die Synthese von [<sup>18</sup>F]**32** eingesetzte Verfahren auch zur Entfernung der Boc-Schutzgruppe, sodass im Falle der Direktmarkierung eine zeit- und aufwandsparende Parallelschützung mittels Mikrowellenbestrahlung möglich ist.



### 3.5.5 Zusammenfassung der Ergebnisse zur Kupfer-vermittelten Direktmarkierung des nNOS-Inhibitors [ $^{18}\text{F}$ ]32

Am Beispiel des nNOS-Liganden wurde gezeigt, dass die Kupfer(II)-vermittelte  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung ausgehend von einem Boronsäureester-Vorläufer durchaus eine vielversprechende Alternative zur mehrstufigen Aufbausynthese darstellt. Der wesentlich geringere Syntheseaufwand ermöglicht die Verkürzung der Gesamtsynthesedauer sowie die Reduzierung der Startaktivität.

Anhand einer Modellverbindung wurde nach der erfolgreichen Herstellung des Markierungsvorläufers und des Kupfer-Komplexes die Eignung dieser  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsmethode zur Darstellung des radiofluorierten nNOS-Liganden untersucht.

Dabei wurde festgestellt, dass die radiochemische Ausbeute der Kupfer-vermittelten Radiosynthese von [ $^{18}\text{F}$ ]27 maßgeblich von der Menge des zur Anionenaktivierung eingesetzten Salzes abhängt, was wahrscheinlich auch die Verwendung eines Zweitopfverfahrens in der zugrundeliegenden Veröffentlichung erklärt.

Die sukzessive Verringerung der Stoffmenge des eingesetzten Basensystems aus Kryptofix® 2.2.2 und Kaliumcarbonat bewirkte eine deutliche Ausbeutesteigerung, sodass radiochemische Ausbeuten von durchschnittlich 52 % für die Modellverbindung [ $^{18}\text{F}$ ]27 erreicht wurden. Außerdem ermöglichte diese Maßnahme die Durchführung der Radiosynthese als Eintopfverfahren.

Basierend auf diesen Vorarbeiten wurde über eine Palladium-katalysierte Kreuzkupplung ein vollständig geschützter Boronsäureester-Vorläufer für die Radiofluorierung des nNOS-Inhibitors durch Direktmarkierung hergestellt. Die anschließende trägerarme Radiomarkierung in Anwesenheit des Kupfer(II)-Komplexes lieferte reproduzierbar das gewünschte Produkt [ $^{18}\text{F}$ ]41 mit einer radiochemischen Ausbeute von bis zu 15 %. Zur gleichzeitigen Entfernung beider Schutzgruppen eignet sich potentiell das getestete Mikrowellenverfahren, das auch im Rahmen der Aufbausynthese erfolgreich eingesetzt wurde.

Mit der Entwicklung eines effektiven Eintopfverfahrens und der erfolgreichen Radiofluorierung des isoformselektiven NOS-Liganden ist somit ein vereinfachtes Syntheseverfahren zur Darstellung des  $^{18}\text{F}$ -markierten nNOS-Inhibitors 6-((3-((3-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorphenylethylamino)methyl)-phenoxy)methyl)-4-methylpyridin-2-amin verfügbar und der Grundstein für weitere pharmakologische Untersuchungen gelegt.

## 4 Experimenteller Teil

### 4.1 Generelle Arbeitstechniken

Alle notwendigen Chemikalien und Lösungsmittel wurden in Synthesqualität von den Firmen *Sigma-Aldrich GmbH* (Steinheim, Deutschland), *Fluka AG* (Buchs, Schweiz), *Bachem AG* (Bubendorf, Schweiz), *ChemPUR GmbH* (Karlsruhe, Deutschland), *Merck KGaA* (Darmstadt, Deutschland) und *Activate Scientific* (Prien, Deutschland) bezogen und ohne besondere Aufarbeitung oder Aufreinigung verwendet. Trockene Lösungsmittel wurden in ausreichender Reinheit erworben.

Alle feuchtigkeitsempfindlichen und/oder sauerstoffempfindlichen Reaktionen wurden unter Argon-Schutzatmosphäre durchgeführt. Die dafür verwendeten Reaktionsgefäße wurden jeweils dreimal mittels Heißluftföhn am Hochvakuum eines Vakuum-Argon-Rechens (Schlenktechnik) ausgeheizt und mit Argon 5.0 (> 99,999 %, *Air Liquide GmbH*) geflutet. Vor dem Einleiten des Schutzgases in die Apparatur wurde es einer Reinigung über eine Hydrosorbpatrone der Firma *Linde AG* (Pullach, Deutschland; Spezifikation < 20 ppb H<sub>2</sub>O Restverunreinigung) unterzogen. Das Vakuum wurde durch eine Drehschieberölrotationspumpe RZ 6 der Firma *Vacuubrand GmbH* (Wertheim, Deutschland) generiert, welche im Idealfall Drücke bis zu  $4 \cdot 10^{-4}$  mbar erzeugt. Zwischen Pumpe und Rechen befanden sich zwei mit flüssigem Stickstoff befüllte Kühlfallen.

Die unter Schutzgas stattfindenden Reaktionen wurden in mit Septen verschlossenen Reaktionsgefäßen durchgeführt und über eine mit Argon 5.0 versorgte Ausgleichskanüle belüftet. Alle feuchtigkeitsempfindlichen und/oder sauerstoffempfindlichen Flüssigkeiten wurden entweder mit Spritzen (Injekt®) und Kanülen (Sterican®) der Firma *B. Braun Melsungen AG* (Melsungen, Deutschland) oder mittels Edelstahlkanüle der Firma *Sigma-Aldrich GmbH* (Steinheim, Deutschland) in das entsprechende Zielgefäß überführt.

#### 4.1.1 Präparative Chromatographie und Dünnschichtchromatographie

Säulenchromatographische Trennungen wurden manuell mithilfe von *Merck* Kieselgel 60 (35-70 µm) durchgeführt. Automatische Trennungen erfolgten durch das Reveleris™ Flash-Chromatographiesystem der Firma *Grace* (Worms, Deutschland) mit Lichtstreu- (ELS) und UV-Detektion auf Flash Grace Reveleris™ Fertigsäulen.

Dünnschichtchromatographie wurde mithilfe von Aluminium-Fertigfolien ALUGRAM® SIL G/UV<sub>254</sub> der Firma *Macherey-Nagel GmbH* (Düren, Deutschland) durchgeführt und bei einer Wellenlänge von 254 nm ausgewertet. Die für die Reversed-Phase-Dünnschichtchromatographie verwendeten modifizierten Kieselgel-Platten RP-18 F<sub>254s</sub> stammten von der Firma *Merck KGaA* (Darmstadt, Deutschland).

#### 4.1.2 Spektrometrische Methoden

Die <sup>1</sup>H-, <sup>11</sup>B-, <sup>13</sup>C- und <sup>19</sup>F-Kernresonanzspektren wurden auf den in Tabelle 4 aufgelisteten Geräten gemessen:

Tabelle 4: Genutzte NMR-Geräte und zugehörige Messfrequenzen.

Modus	<i>Bruker DPX Avance</i> 200, (INM-5)	<i>Varian INOVA 400,</i> (ZEA)	<i>Bruker Avance 600,</i> (ZEA)
<sup>1</sup> H-NMR	200,13 MHz	400,13 MHz	600,15 MHz
<sup>13</sup> C-NMR	50,33 MHz	100,62 MHz	150,92 MHz
<sup>19</sup> F-NMR	188,31 MHz	376,47 MHz	564,65 MHz
<sup>11</sup> B-NMR	-	-	192,56 MHz

Die chemischen Verschiebungen sind in ppm relativ zu den Signalen der verwendeten Lösungsmittel angegeben. Multiplizitäten werden mit s (Singulett), d (Duplett), t (Triplet) und m (Multipllett) bezeichnet.

Die Elektronenspray-Massenspektren (ESI-MS) wurden auf einem Finnigan Automass Multi-Massenspektrometer der Firma *Thermoquest* (Bieberach, Deutschland) gemessen. Die hochauflösenden massenspektrometrischen Untersuchungen (HR-MS) wurden an einem LTQ FT Ultra der Firma *Thermo Fisher Scientific Inc.* (Bremen, Deutschland) im ZEA des Forschungszentrums Jülich gemessen. Das Hybrid-Massenspektrometer bestand aus einer vorgelagerten, linearen Ionenfalle (LTQ) und dem eigentlichen FT-ICR-MS. Der Messmodus war ESI positiv (+) oder negativ (-). Der Messbereich war spezifiziert mit einer Abweichung von 2 ppm. Elementaranalysen wurden mithilfe des Messsystems *vario EL cube* der Firma *Elementar Analysensysteme GmbH* (Hanau, Deutschland) im ZEA des Forschungszentrums Jülich durchgeführt. Die angegebenen Fehler sind jeweils die Absolut-Fehler.

### 4.1.3 Präparative Radiochromatographie

Sep-Pak® Plus C-18-Kartuschen stammten von der Firma *Waters GmbH* (Eschborn, Deutschland) und wurden vor Gebrauch mit 10 mL Ethanol abs. und 20 mL *Merck KGaA* EMSURE® Wasser konditioniert. *Merck KGaA* LiChrolut® Glassäulen (65 x 10 mm) wurden bedarfsgerecht für die Normalphasenchromatographie mit *Merck KGaA* Kieselgel 60 (35-70 µm) oder für Trocknungsprozesse mit *Sigma-Aldrich* Natriumsulfat (Art.-Nr.: 238597) gefüllt und mit *Merck KGaA* LiChrolut® PTFE Filter (10 µm) verschlossen. Sep-Pak®Light QMA-Kartuschen der Firma *Waters GmbH* wurden vor Gebrauch mit 10 mL Wasser gespült.

### 4.1.4 Radioanalytische Methoden

Radioaktivitäten wurden auf dem Aktivimeter Curiementor 2 der Firma *PTW GmbH* (Freiburg, Deutschland) quantifiziert. Die Analyse der Radioaktivprodukte erfolgte mittels Radiodünnschichtchromatographie (Radio-DC), Radiogaschromatographie (Radio-GC) und Radiohochleistungsflüssigchromatographie (Radio-HPLC).

#### **Radiodünnschichtchromatographie**

Zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeute und der Zusammensetzung isolierter Radioaktivproduktgemische wurden auf eine Kieselgel-Fertigplatte ALUMGRAM® SIL G/UV<sub>254</sub> im Abstand von 1 cm jeweils dreimal 2 µL der zu untersuchenden Probe aufgetragen und mit der entsprechenden mobilen Phase entwickelt. Zur Quantifizierung und um das Auftreten flüchtiger Stoffe auszuschließen wurden unmittelbar über der Laufmittelfront im gleichen Abstand ebenfalls dreimal 2 µL der gleichen Probe aufgetragen (Referenzaliquot). Die Laufmittelgrenze und die Startlinie wurden mit einer verdünnten radioaktiven Lösung markiert. Anschließend wurden die getrockneten Chromatographiestreifen am Instant Imager der Firma *Packard* vermessen. Die Auswertung der radiochemisch Ausbeute (RCA) erfolgte gemäß folgender Gleichung:

$$RCA [\%] = \frac{A_x}{A_{ges.}} \cdot 100 \quad (1)$$

Dabei entspricht  $A_x$  der mittleren Aktivität von je drei Spots gleicher Retention.  $A_{ges.}$  ist der Mittelwert aus allen drei Referenzaliquoten der zu untersuchenden Probe, die jeweils nach der Entwicklung der Chromatographiestreifen unmittelbar über der Laufmittelfront aufgetragen wurden.

*Tabelle 5: Auflistung der  $R_f$ -Werte radiochemisch relevanter Referenzverbindungen mit Laufmittel und Substanzbezeichnung.*

Verbindung	Laufmittel	$R_f$
4	1 EE : 1 nHexan	0,8
5	2 Phenol : 1 EtOH : 1 NH <sub>3</sub> 25 %-ig (aq.)	0,4
6	2 Phenol : 1 EtOH : 1 NH <sub>3</sub> 25 %-ig (aq.)	0,6
27	1 EE : 4 PE	0,5
31	9 EE : 1 PE + 1 % TEA	0,8
32	9 EE : 1 PE + 1 % TEA	0,5
33	9 EE : 1 PE + 10 % TEA	0,9
34	9 EE : 1 PE + 10 % TEA	0,7
41	1 EE : 4 PE	0,7

### **Radiogaschromatographie**

Radiogaschromatographische Untersuchungen wurden mit dem Gaschromatograph Serie 6890 der Firma *Hewlett Packard GmbH* (Böblingen, Deutschland) durchgeführt. Das Gerät verfügt über einen Split/Splittless-Einlass und ermöglicht eine Detektion sowohl mit einem Flammenionisationsdetektor (FID) als auch einem Wärmeleitfähigkeitsdetektor (WLD). Radioaktivitäten wurden durch das System aus *EG&G Ortec* Model 276 Photomultiplier Base mit NaI(Tl)-Detektorkristall und ACE Mate Signalverstärker bestimmt. Zur Auswertung und Bedienung der Anlage diente ein Gina Star Interface der Firma *Raytest GmbH* (Straubenhardt, Deutschland) gekoppelt mit der entsprechenden Software in der Version 5.9 SP10.

### **Radiohochleistungsflüssigkeitschromatographie**

Radio-HPLC wurde an zwei verschiedenen Anlagen durchgeführt:

**System 1:** Das *Knauer*-HPLC-System, bestehend aus einer Azura P 4.1S Pumpe und einem Azura UVD 2.1S UV/VIS-Detektor der Firma *Knauer GmbH* (Berlin, Deutschland), ermöglichte nur isokratische Trennverfahren. Radioaktivitäten wurden durch das System aus *EG&G Ortec* Model 276 Photomultiplier Base mit NaI(Tl)-Detektorkristall und ACE Mate Signalverstärker bestimmt. Zwei manuelle

*Rheodyne* Injektionsventile mit 20 µL Probenschleife dienten der Probenaufgabe vor und nach der HPLC-Säule. Zur Auswertung und Bedienung der Anlage diente ein Gina Star Interface der Firma *Raytest GmbH* (Straubenhardt, Deutschland) gekoppelt mit der entsprechenden Software in der Version 5.9 SP10.

**System 2:** Mit dem *Dionex*-HPLC-System der Firma *Thermo Scientific* (Sunnyvale, USA), bestehend aus einer Ultimate 3000 LPG-3400A-Pumpe, einem Ultimate 3000 VWD-3100 UV/Vis-Detektor mit einem UCI-50 Chromatographie Interface sowie dem  $\gamma$ -Durchflussdetektor Gabi Star der Firma *Raytest GmbH* (Straubenhardt, Deutschland), waren auch Gradientenverfahren möglich. Zwei manuelle *Rheodyne* Injektionsventile mit 20 µL Probenschleife dienten der Probenaufgabe vor und nach der HPLC-Säule. Zur Bedienung und Auswertung wurde das Programm *Chromeleon* in der Softwareversion 6.80 verwendet.

Die zu untersuchende Probe wurde zur chromatographischen Trennung mittels der ersten Probenschleife auf die HPLC-Trennsäule injiziert. Nach Elution aller relevanten Substanzen wurde die gleiche Probe noch dreimal über das zweite Injektionsventil nach der Trennsäule injiziert (Referenzaliquote). Zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeute und der Zusammensetzung isolierter Radioaktivproduktgemische wurde entsprechend Gleichung (2) verwendet.

$$RCA [\%] = \frac{A_X \cdot 100}{A_{ges} \cdot e^{-\lambda \cdot \Delta t}} \quad (2)$$

Der Exponentialterm dient zur Zerfallskorrektur über die HPLC-Retentionszeit mit der Zerfallskonstante  $\lambda$  von Fluor-18 und  $\Delta t$  als Zeitdifferenz zwischen der Aktivität des betrachteten Eluats  $A_X$  und den Referenzaliquoten.  $A_{ges}$  ist ein Mittelwert aus der Aktivität aller drei Referenzaliquoten.

Die mobile Phase wurde je nach HPLC-Verfahren manuell aus *Merck KGaA* Acetonitril (HPLC-Grade) und *Merck KGaA* EMSURE® Wasser vorgemischt. Das fertige Laufmittelgemisch wurde vor Gebrauch 15 Minuten lang im Ultraschallbad des Typs Elmasonic S 60 H der Firma *Elma GmbH* (Singen, Deutschland) entgast.

Als stationäre Phasen für die HPLC-Untersuchungen dienten verschiedene HPLC-Säulen der Firma *Phenomenex Inc.* (Aschaffenburg, Deutschland).

- a) Gemini 5µm C18 110Å 250x4.60 mm mit Gemini C18 Security Guard
- b) Luna 5µm C18(2) 100Å 250x4.60 mm mit Luna C18 Security Guard
- c) Luna 5µm C8(2) 100Å 250x4.60 mm

- d) Luna 5µm PFP(2) 100Å 250x4.60 mm mit Luna PFP(2) Security Guard
- e) Gemini 5µm C18 110Å 250x10 mm
- f) Luna 5µm PFP(2) 100Å 250x10 mm
- g) Chirex 3126 (D)-Penicillami 150 x 4,6 mm

*Tabelle 6: Auflistung der HPLC-Trennmethode (\*Gradientenprogramm von Methode 13: 0-16 min 70 % A; 16-30 min 70 % - 50 % A; 30-40 min 50 % A; 40-41 min 50 % - 70 % A; 41-60 min 70 % A; \*\*Gradientenprogramm von Methode 16: 0-10 min 40 % A; 10-15 min 40 % - 20 % A; 15-35 min 20 % A; 35-40 min 20 % - 40 % A; 40-60 min 40 % A; \*\*\*Gradientenprogramm von Methode 17: 0-8 min 40 % A; 8-15 min 40 % - 20 % A; 15-40 min 20 % A; 40-45 min 20 % - 40 % A; 45-60 min 40 % A).*

Methode	Säule	Laufmittel	Wellenlänge	Fluss	Injektions-volumen
1	d)	40 MeCN : 60 H <sub>2</sub> O + 0,1 % TEA; H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> pH 8,4	254 nm	1 mL/min	20 µL
2	d)	40 MeCN : 60 H <sub>2</sub> O	254 nm	1 mL/min	20 µL
3	f)	40 MeCN : 60 H <sub>2</sub> O + 0,1 % TEA; H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> pH 8,4	269 nm	4 mL/min	1000 µL
4	d)	40 MeCN : 60 H <sub>2</sub> O	269 nm	1 mL/min	20 µL
5	d)	60 MeCN : 40 H <sub>2</sub> O	254 nm	1 mL/min	20 µL
6	g)	1 mM wässr. CuSO <sub>4</sub>	254 nm	0,2 mL/min	20 µL
7	e)	40 MeCN : 60 H <sub>2</sub> O + 0,1 % TEA	272 nm	1 mL/min	20 µL
8	e)	70 MeCN : 30 H <sub>2</sub> O	272 nm	1 mL/min	20 µL
9	e)	60 MeCN : 40 H <sub>2</sub> O	272 nm	1 mL/min	20 µL
10	c)	30 EtOH : 70 H <sub>2</sub> O + 0,5 Gew.-% Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	272 nm	0,6 mL/min	20 µL
11	f)	70 MeCN : 30 H <sub>2</sub> O	254 nm	2 mL/min	500 µL

Fortsetzung Tabelle 6

Methode	Säule	Laufmittel	Wellenlänge	Fluss	Injektions -volumen
12	b)	60 MeCN : 40 H <sub>2</sub> O	261 nm	1 mL/min	20 µL
13	d)	*) A: H <sub>2</sub> O + 0,1 % TEA, B: MeCN + 0,1 % TEA	261 nm	1 mL/min	20 µL
14	a)	70 MeCN : 30 H <sub>2</sub> O + 0,1 % TEA	261 nm	1 mL/min	20 µL
15	a)	60 ACN : 40 H <sub>2</sub> O + 0,1 % TEA	261 nm	1 mL/min	20 µL
16	a)	**) A: H <sub>2</sub> O + 0,1 % TEA B: MeCN + 0,1 % TEA	261 nm	1 mL/min	20 µL
17	a)	***) A: H <sub>2</sub> O + 0,1 % TEA B: MeCN + 0,1 % TEA	261 nm	1 mL/min	20 µL

Der Kapazitätsfaktor  $k'$  der jeweiligen Analyten berechnet sich durch die folgende Beziehung aus der Retentionszeit  $t_R$  des Analyten und der Säulentotzeit  $t_0$ :

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad (3)$$

Tabelle 7: Auflistung der  $k'$ -Werte untersuchter Analyten. Geordnet nach gemeinsamen HPLC-Methoden.

Verbindung	HPLC-System	Methode	Kapazitätsfaktor $k'$
Fluorphenol	1	1	2,17 (Phenol); 2,60 (2-Fluorphenol); 3,21 (3-Fluorphenol); 2,88 (4-Fluorphenol)
Fluoranisol	1	2	6,69 (Anisol); 7,27 (2-Fluoranisol); 9,31 (3-Fluoranisol); 8,21 (4-Fluoranisol)
4-Benzoyloxy-1-fluorbenzen	1	5	5,49
Lysin	1	6	0,67 (L-Isomer); 0,98 (D-Isomer)
5	1	6	0,62 (L-Isomer); 0,93 (D-Isomer)
Iminoethyllysin	1	6	1,43



Fortsetzung Tabelle 7

Verbindung	HPLC-System	Methode	Kapazitätsfaktor $k'$
6	1	6	1,30
18	1	7	4,54
15	1	8	1,69
16	1	8	2,74
20	1	8	4,21
15	1	9	3,26
16	1	9	5,03
19	1	9	7,95
18	1	10	12,13
27	1	12	3,20
<i>o</i> -26	2	13	6,02
<i>m</i> -26			7,04
<i>p</i> -26			7,98
34	2	13	15,00
33	1	14	2,84
31	1	14	6,69
31	1	15	19,39
32	1	15	2,90
31	2	16	7,28
32	2	16	2,68
31	2	17	2,72
32	2	17	7,24
41	2	17	14,04

## 4.2 Cyclovoltammetrie

*Die in den folgenden Kapiteln 4.2.1 und 4.2.2 behandelten Inhalte basieren auf Arbeiten, die im Rahmen eines Verbundprojektes entstanden sind. Zum besseren Verständnis und aus Gründen der Vollständigkeit sind hier Teile der bereits in der Diplomarbeit<sup>199</sup> und im Abschlussbericht<sup>200</sup> des Projektes veröffentlichten Inhalte eingebunden.*

Die cyclovoltammetrischen Untersuchungen wurden mit dem Potentiostaten PGSTAT 101 der Firma *Metrohm* (Filderstadt, Deutschland) durchgeführt. Programmierungen, Aufzeichnungen und Auswertungen erfolgten mit der Software NOVA (Version 1.7) der Firma *Metrohm*. Die Arbeitselektrode aus Platin (Durchmesser: 2 mm; Oberfläche:  $\pi \text{ mm}^2 \approx 3,14 \text{ mm}^2$ ), die Gegenelektrode aus Glaskohlenstoff und die Ag/AgCl-Referenzelektrode sind im Anhang, Abbildung 6.1 zur Veranschaulichung abgebildet.

Im inneren Glaskörper der Referenzelektrode befindet sich eine Silberelektrode, eingelassen in eine Lösung aus LiCl in Ethanol ( $c = 2 \text{ mol/L}$ ). Der äußere Glaskörper enthält den Brückenelektrolyten Tetraethylammoniumbromid (TEABr,  $c = 0,4 \text{ mol/L}$  in Ethylenglycol). Der innere und äußere Glaskörper sind durch eine Glasmembran miteinander verbunden. Die Elektroden wurden, wie in der Abbildung dargestellt, in der dafür vorgesehenen Halterung fixiert. Der Abstand zwischen Arbeits- und Gegenelektrode betrug 19 mm, der zwischen Referenz- und Arbeitselektrode 14 mm. Die Messzelle aus Glas fasste ein Volumen von 50 mL.

Vor der Durchführung der cyclovoltammetrischen Messungen waren grundlegende Experimente nötig.

### 4.2.1 Deckschichtdiagramm

Ein Deckschichtdiagramm von Platin gab Auskunft über die fehlerfreie Funktion der Apparatur. In einer wässrigen 0,5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -Lösung wurde zwischen den Umkehrpotentialen -0,4 V und 1,3 V bei einer Vorschubgeschwindigkeit von 500 mV/s ein Cyclovoltammogramm aufgenommen (vgl. Abbildung 50).

In Abwesenheit einer elektrochemisch aktiven Spezies wird ein charakteristischer Kurvenverlauf beobachtet, der aus dem Auf- und Abbau von Wasserstoff- und Sauerstoffdeckschichten resultiert. Anhand des Literaturbeispiels<sup>240</sup> in Abbildung 49 lassen sich die charakteristischen Signale wie folgt erklären:

Bei 0,4 V vs. RHE (reversible hydrogen electrode = Standard Wasserstoff Elektrode) fließt in positiver Potentialvorschubrichtung ein geringer Strom, der zur Aufladung der elektrischen Doppelschicht benötigt wird. Ähnlich wie bei der Aufladung eines Kondensators ist dieser Strom von rein kapazitiver Natur. Ab etwa 0,8 V fließt in gleicher Richtung ein Strom, der für die Chemisorption von Sauerstoff an der Platinelektrode benötigt wird (vgl. Gleichung 4 u. 5).

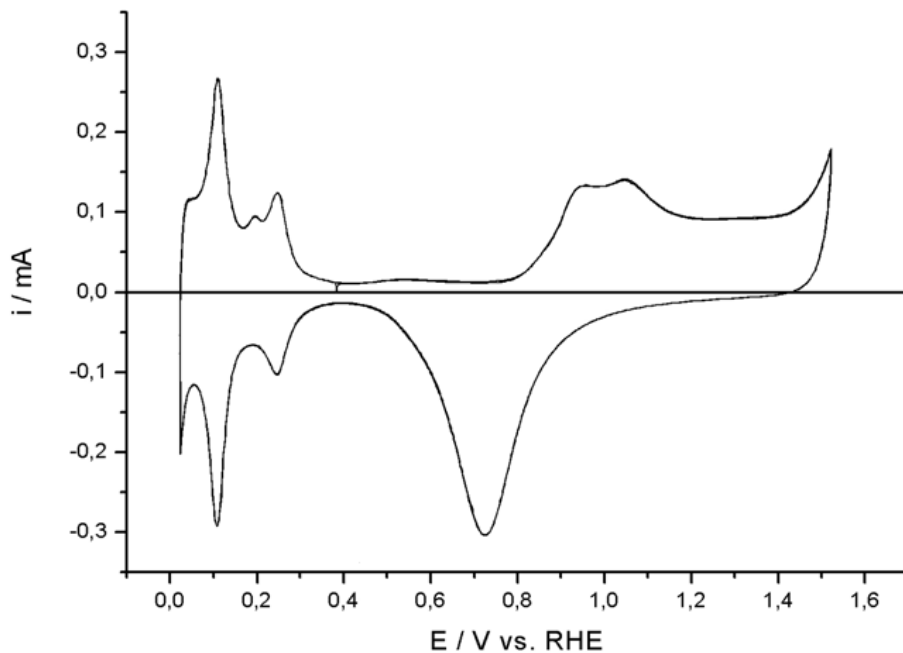


Abbildung 49: Deckschichtdiagramm von Platin (polykristallin) in 0,5 M  $H_2SO_4$ ; 50 mV/s (aus 240).



Ab 1,5 V setzt schließlich die Sauerstoffentwicklung ein. Im Potentialrücklauf wird die Sauerstoffdeckschicht mit einer Überspannung von mehreren 100 mV wieder reduziert, bis es bei Erreichen von 0,73 V in gleicher Potentialvorschubrichtung zur Desorption von Sauerstoff kommt. Nach einem schmalen Doppelschichtbereich beginnt die Adsorption von atomarem Wasserstoff (vgl. Gleichung 6), bis der stark ansteigende Strom kurz vor Erreichen des negativen Umkehrpotentials die Bildung von Wasserstoff anzeigt.<sup>241</sup>



Das gemessene Cyclovoltammogramm aus Abbildung 50 ist qualitativ weitgehend mit dem aus der Literatur beschriebenen (vgl. Abbildung 49) vergleichbar. Laut

Herstellerangaben ist die Ag/AgCl-Referenzelektrode bei 20 °C um 148 mV gegen die Standard-Wasserstoff-Elektrode verschoben. Im Rahmen der Messgenauigkeit ist die Spannung für die Oxidation von adsorbiertem Sauerstoff in Abbildung 50 ( $\approx 1,3$  V) um die gleiche Größenordnung gegen das im Literaturbeispiel ( $\approx 1,5$  V) gemessene Potential verschoben und bestätigt somit eine fehlerfreie Funktion der Apparatur.

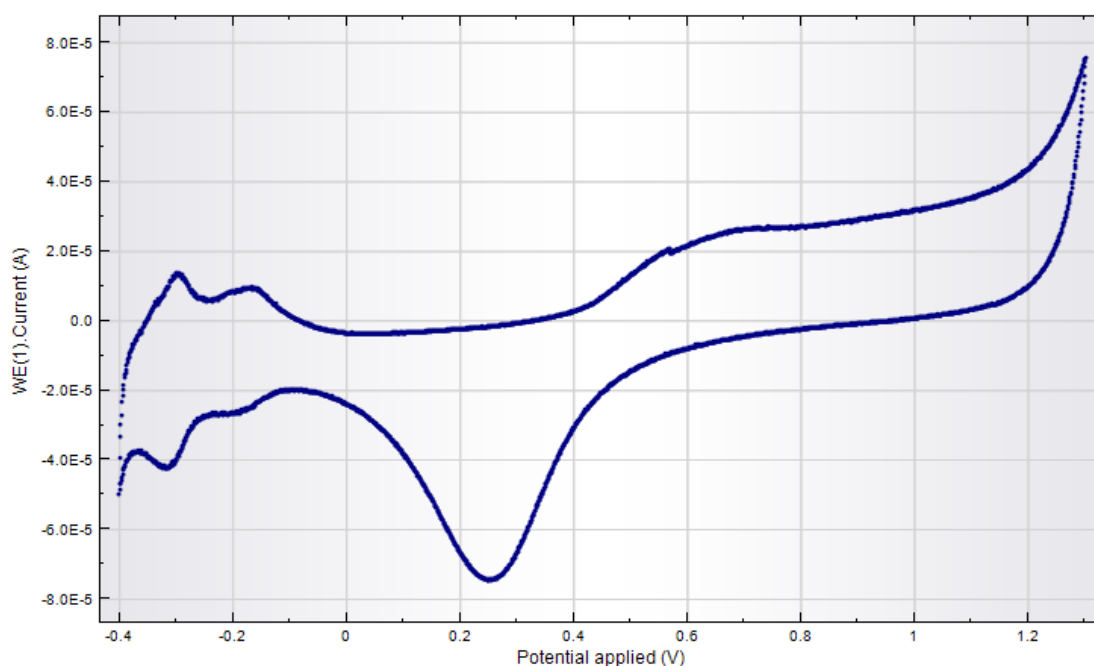


Abbildung 50: Deckschichtdiagramm in 0,5 M  $H_2SO_4$  zwischen -0,4 und 1,3 V bei 500 mV/s an Platin (polykristallin).

#### 4.2.2 Methodenentwicklung

Die Entwicklung einer geeigneten Methode zur cyclovoltammetrischen Messung des Potentialfensters für einen gegebenen Elektrolyten erforderte zunächst die Bestimmung der optimalen Potentialvorschubgeschwindigkeit. Abhängig von der Geschwindigkeit der heterogenen Reaktion zwischen Elektrode und Elektrolyt können nur Prozesse beobachtet werden, die mit der entsprechenden Vorschubgeschwindigkeit korrelieren. Eine langsame Elektrodenreaktion kann nicht mit einer hohen Vorschubgeschwindigkeit gemessen werden. Das Potential, bei dem diese Reaktion abläuft, unterliegt im Vergleich zur Reaktionsgeschwindigkeit einer zu schnellen Veränderung, sodass ein daraus resultierender Strom nicht beobachtet werden kann. Aus diesem Grund wurden die Messungen für jedes System bei unterschiedlichen Vorschubgeschwindigkeiten wiederholt.

Die Abbildung 51 zeigt die Cyclovoltammogramme der ionischen Flüssigkeit 1-Butyl-3-methylimidazoliumtrifluormethansulfonat (BMImOTf) in einem Potentialbereich von -2 bis 3 V. Die Vorschubgeschwindigkeit wurde zwischen 25 mV/s, 100 mV/s und 1 V/s variiert, wobei in positiver Potentialvorschubrichtung keine zusätzlichen Signale zu sehen waren. Von besonderem Interesse für die Wahl einer geeigneten Elektrosynthesespannung und die Information über die Stabilität der chemischen Komponenten gegenüber einer anodischen Oxidation ist lediglich die Veränderung des Stromes in positiver Potentialvorschubrichtung von 0 V bis zum Umkehrpotential.

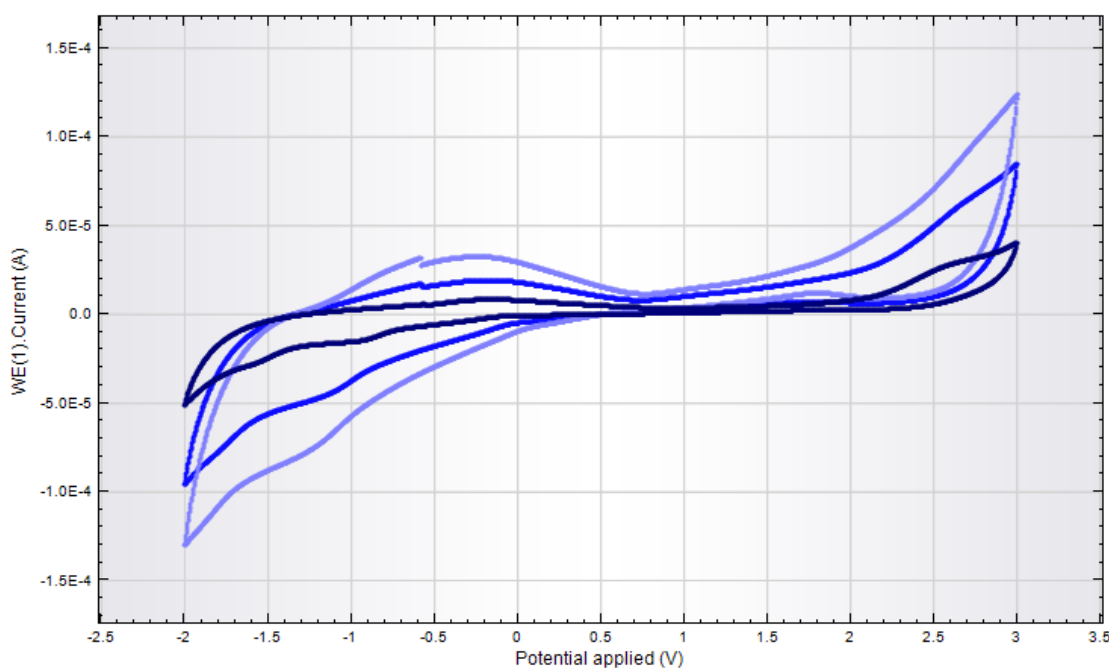


Abbildung 51: CV-Messungen von BMImOTf bei unterschiedlichen Vorschubgeschwindigkeiten zwischen -2 und 3 V an Platin (dunkelblau: 25 mV/s, blau: 100 mV/s, hellblau: 1 V/s).

Weiterhin fällt auf, dass die gemessenen Ströme mit zunehmender Potentialvorschubgeschwindigkeit steigen. Bei der Cyclovoltammetrie spricht man von einem zeitlich linearen Anstieg der Spannung. Technisch wird das durch die Hintereinanderschaltung vieler kleiner Potentialstufen realisiert („staircase voltammetry“, vgl. Abbildung 52). Die Größe der Potentialstufen  $\Delta E$  und die der dazwischenliegenden Zeitintervalle  $\tau$  stehen in direkter Beziehung mit der Potentialvorschubgeschwindigkeit (vgl. Gleichung 7).

$$\frac{\Delta E}{\tau} = \text{Potentialvorschubgeschwindigkeit [Vs}^{-1}\text{]} \quad (7)$$

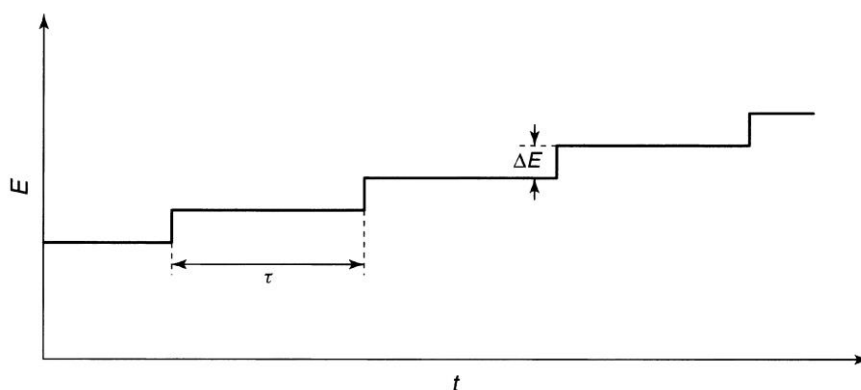
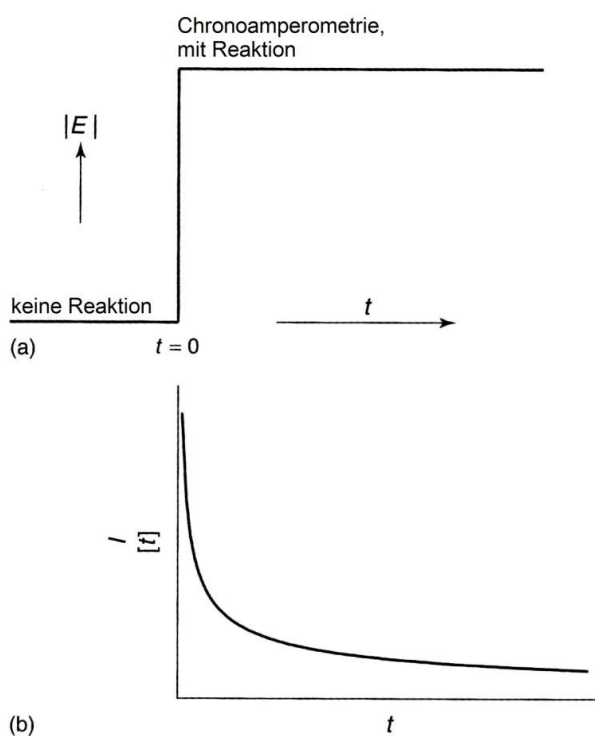


Abbildung 52: Zeitabhängiger Potentialverlauf für die „staircase voltammetry“ (aus 242).

Bei jeder Potentialstufe verhält sich der Strom so, wie es bei der Chronoamperometrie beobachtet wird (vgl. Abbildung 53). Sie beginnt mit einem Potential bei dem noch kein Elektrodenprozess stattfindet. Es fließt kein Strom. Zum Zeitpunkt  $t = 0$



wird die Spannung auf einen definierten Wert eingestellt. Der Strom reagiert auf diese Änderung mit einem scharfen Signal und relaxiert anschließend asymptotisch gegen Null. Im Umfeld der Elektrodenoberfläche bildet sich ein Konzentrationsgradient, sodass der Strom letztlich nur noch von der Diffusion abhängt.

Abbildung 53: Chronoamperometrie  
(a) zeitlicher Spannungsverlauf  
(b) resultierender Strom-Zeit-Verlauf  
(aus 243)

Bei Erhöhung der Vorschubrate wird der Strom zu einem früheren Zeitpunkt aufgezeichnet. Das Zeitintervall zwischen den Potentialstufen wird kleiner, sodass aus der dargestellten Abhängigkeit (b) höhere Ströme resultieren (vgl. Abbildung 53). In Übereinstimmung mit anderen CV-Versuchen und zur besseren Vergleichbarkeit wurde hinsichtlich der Methodenentwicklung für weitere Messungen daher eine Standardvorschubgeschwindigkeit von 100 mV/s bestimmt. Dennoch wurde jedes neue Elektrolytsystem zur Sicherheit mit verschiedenen Vorschubraten (1 V/s, 100 mV/s und 25 mV/s) untersucht.

### 4.2.3 CV-Messungen

Alle CV-Messungen wurden unter Schutzgasbedingungen (Argon 5.0) in einem Flüssigkeitsvolumen von 9 mL durchgeführt. Das Messgefäß wurde vor jeder Messung gereinigt und für mindestens 12 h bei 100 °C im Trockenschrank gelagert. Anschließend wurde der noch heiße Glaskörper in die Apparatur eingesetzt und 5 min mit Argon geflutet. Die Untersuchungslösung wurde im Argongegenstrom mit einer Spritze und Kanüle durch ein Septum in die Messzelle überführt und vor Beginn der Messung sorgfältig entgast. Dazu wurde die verschlossene Messzelle 10 min im Ultraschallbad fixiert, anschließend mit Argon durchspült und erneut mittels Ultraschall behandelt. Die Elektroden wurden erst kurz vor der Messung ebenfalls im Argongegenstrom langsam in die Untersuchungslösung eingetaucht. Für die Aufnahme des Deckschichtdiagrammes wurde die Referenzelektrode in der zu untersuchenden Lösung vorkonditioniert und anschließend in der vorgesehenen Halterung befestigt. Die CV-Messungen zur Machbarkeitsstudie der elektrochemischen Darstellung von *N*-[<sup>18</sup>F]Fluorbistrifluormethylsulfonylimid wurden ohne Referenzelektrode in 2-Elektrodenanordnung durchgeführt.

*Tabelle 8: Parameter der CV-Messungen zur Machbarkeitsstudie der elektrochemischen Darstellung von N-[<sup>18</sup>F]Fluorbis(phenylsulfonyl)imid.*

Nr.	Grenzpotential [V]		Vorschubgeschwindigkeit [mV/s]
	kathodisch	anodisch	
1	-0,5	3	100
2	-0,5	4	100
3	-3,5	3,5	25, 1000
4	-5	5	25, 100

### 4.3 Elektrosynthesen

Die Elektrosyntheseversuche wurden in Anlehnung an die Ergebnisse aus den CV-Messungen potentiostatisch an einer Sigradur®G Elektrode mit Platin-Kathode in einer bereits etablierten Elektrosyntheseeinheit<sup>27</sup> durchgeführt. Eine für diese Versuche entwickelte Apparatur ermöglichte die ferngesteuerte Durchführung der Synthesen und ist in Form eines Flussschemas in Abbildung 54 dargestellt.

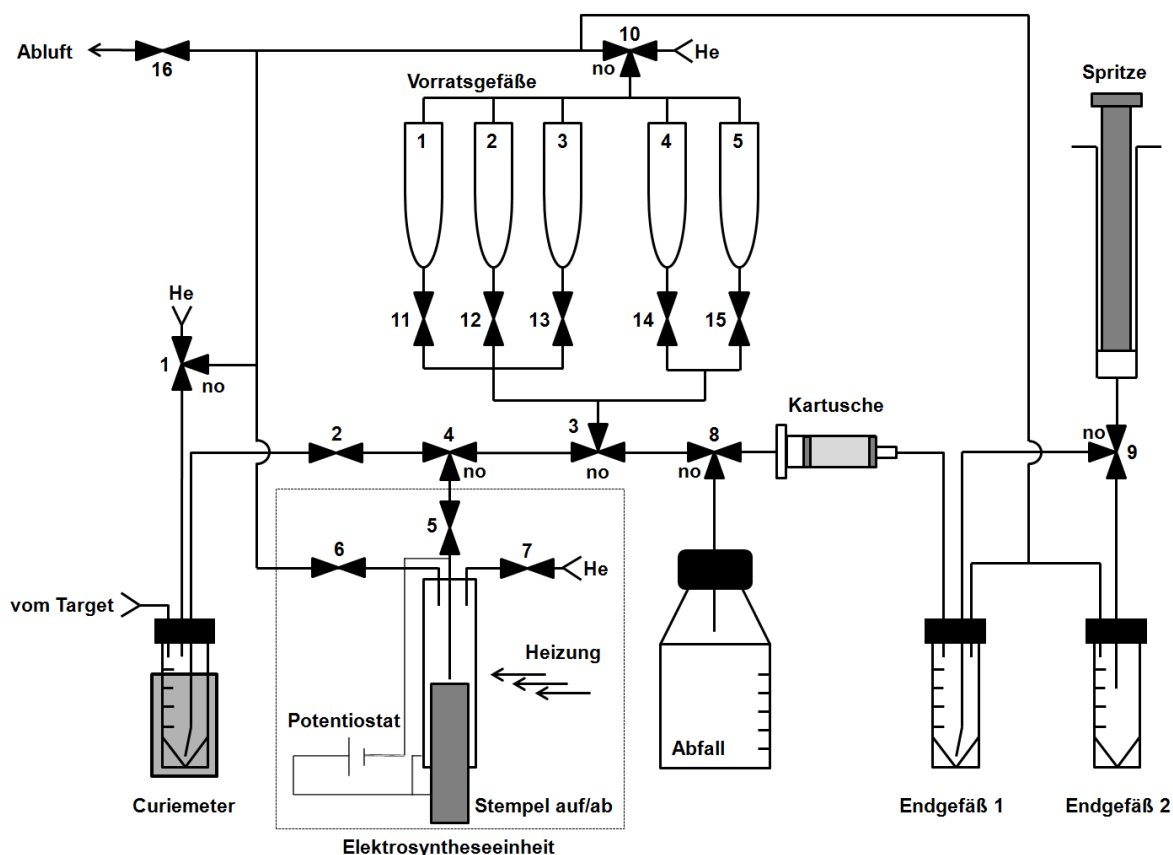


Abbildung 54: Flussschema der Elektrosyntheseapparatur zur Radiofluorierung.

Die in der Syntheseapparatur installierte Elektrosyntheseeinheit bestand im Wesentlichen aus einem Glaskohlenstoffzylinder (vgl. Abbildung 55, 1) mit einem Innendurchmesser von 7 mm und einer Länge von 70 mm, der die Elektrosynthesekammer bildete und die Funktion der Anode bei der Fixierung der Aktivität übernahm. Über die zentrisch eingeführte Platinkanüle (2) wurden alle zur Synthese benötigten Flüssigkeiten in das Zellinnere ein- und ausgeleitet. Sie hatte einen Durchmesser von 1,6 mm und diente gleichzeitig als Gegenelektrode. Diese Elektrosyntheseapparatur verfügte insbesondere über einen Glaskohlenstoffstempel (3), der zur Veränderung des Zellvolumens und des Zellfüllstandes über einen Bügel (4) auf- und abgefahren werden konnte. Bei heruntergefahrenem Stempel (links in Abbildung 55)



war die Zelle bei Beladung mit dem vollständigen Volumen des Targetwassers von 1,3 mL zur Hälfte gefüllt. Bei hochgefahrenem Stempel entsprach der 0,5 mm breite Abstand zwischen der Zylinderoberfläche und dem Stempel ein Volumen von 0,3 mL, sodass bei Befüllung mit selbigem Volumen die Zelle halb gefüllt war und die mit  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid benetzte Fläche vollständig bedeckt war. Die Kammer wurde über einen Gasauslass entlüftet. Der Glaskohlenstoffzylinder konnte über eine Widerstandsheizung temperiert werden.

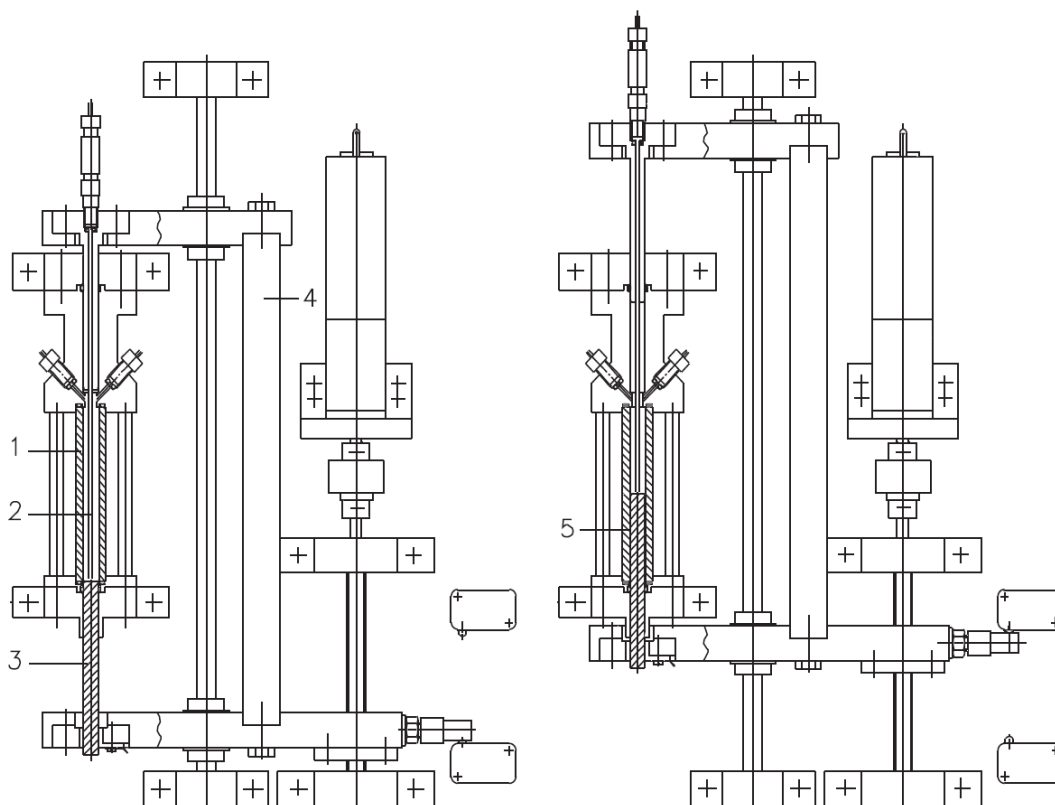


Abbildung 55: Längsschnitt durch die Elektrosyntheseeinheit. Links mit herabgefahrenem Sigradur<sup>®</sup>-Stempel für die anodische Fixierung des  $[^{18}\text{F}]$ Fluorids und rechts mit hochgefahrenem Stempel zur Verringerung des Zellvolumens für die Elektrosynthese (1: Glaskohlenstoffzylinder, 2: Pt-Kanüle, 3: Glaskohlenstoffstempel, 4: Bügel, 5: Reaktionsvolumen; aus 214).

## Reinigungsprozedur

Die Elektrosynthesezelle wurde vor jeder Synthese zur Reinigung vollständig demontiert, mechanisch mit VE-Wasser und Aceton gereinigt und nach Installation in der Apparatur einem Drucktest unterzogen. Alle Vorratsgefäße sowie nachfolgende Leitungen wurden nach den Synthesen einmal mit VE-Wasser und zweimal mit Aceton gereinigt und anschließend mit Helium intensiv getrocknet.

## Allgemeine Elektrosynthesevorschrift:

### 1. Vorbereitungen

Die Vorratsgefäße 1 und 2 (vgl. Abbildung 54) wurden mit je 2 mL Aceton befüllt. Vorratsgefäß 3 wurde mit der ionischen Flüssigkeit befüllt. Bei Durchführung einer Monitorsynthese wurde Vorratsgefäß 4 mit dem Nachweisreagenz und einem Lösungsmittel bestückt. Vorratsgefäß 5 enthielt das nach der Synthese zur Spülung der Zelle verwendete Lösungsmittel. Vor Synthesebeginn wurde Ventil 16 (V16) geöffnet und der Stempel zur Maximierung des Zellvolumens der Elektrosynthese-einheit herabgefahren.

### 2. Anodische Fixierung des n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids an der Glaskohlenstoffelektrode

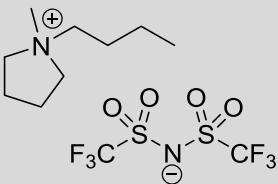
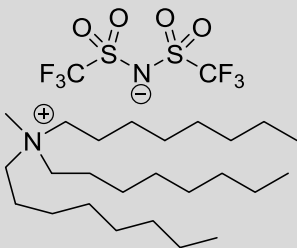
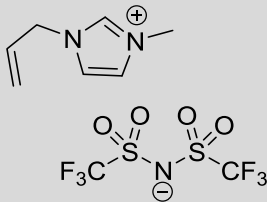
Die n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid-haltige (i.d.R. 5-12 GBq) wässrige Lösung wurde zur Quantifizierung zunächst in ein Spitzvial im Curiemeter gesammelt und anschließend bei geöffnetem V6 mit Helium über V2, V4 und V5 in die Elektrosynthesezelle überführt. Zur Fixierung des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids wurde für eine Dauer von 6-8 min zwischen dem Glaskohlenstoffzylinder und -stempel (Kathode) und der Platinanode eine Spannung von 20 V angelegt. Für den Fall, dass der Strom einen Wert von 10 mA überstieg, wurde die Spannung reduziert und die Fixierdauer bis maximal 12 min verlängert. Anschließend wurde die Spannung auf 2 V reduziert und das [ $^{18}\text{O}$ ]H<sub>2</sub>O über V5, V4 und V2 zurück in das Targetgefäß geleitet. Die Spannung wurde abgeschaltet. Anschließend wurde die Zelle mit Aceton aus Vorratsgefäß 1 über V11, V3, V4 und V5 in die Kammer überführt und über V5, V4, V3 und V8 in den Abfallbehälter transferiert. Diese Prozedur wurde mit der 2. Portion des Acetons wiederholt. Alle Leitungen und die Zelle wurden anschließend über V11/V12, V3, V4, V5 und V6 und nach je 5 min über V7, V5, V4, V3 intensiv mit He gespült.

### 3. Elektrosynthese des elektrophilen Fluorierungsreagenzes

Nach der Trocknungsprozedur wurden 500-1000  $\mu\text{L}$  der ionischen Flüssigkeit mit Helium aus Vorratsgefäß 3 vorsichtig in die Elektrosynthesezelle überführt. Das Volumen der ionischen Flüssigkeit wurde in Abhängigkeit von seiner Viskosität bzw. seiner Transportierbarkeit über die Leitungen im Synthesemodul speziell angepasst. Der Glaskohlenstoffstempel wurde hochgefahren, sodass die vorher mit der wässrigen Fluorid-Lösung benetzte Fläche vollständig mit der ionischen Flüssigkeit in

Kontakt kam. Dafür musste ein Mindestvolumen von 350  $\mu\text{L}$  der IL in die Zelle transportiert werden. Die Elektrodenanordnung wurde im Vergleich zur Fixierung nicht geändert und die Spannung wurde auf 6-8 V eingestellt. Der Strom sollte über eine Synthesedauer von 5 min einen Wert von 10 mA nicht übersteigen, warum gegebenenfalls die Synthesespannung reduziert wurde.

*Tabelle 9: Für Elektrosynthesen verwendete ionische Flüssigkeiten.*

<b>BMPTf<sub>2</sub>N</b>	<b>TOMATf<sub>2</sub>N</b>	<b>AMITf<sub>2</sub>N</b>
1-Butyl-1-methylpyrrolidinium-bis(trifluormethylsulfonyl)imid	Trioctylmethylammonium-bis(trifluormethylsulfonyl)imid	1-Allyl-3-methylimidazolium-bis(trifluormethylsulfonyl)imid
500 $\mu\text{L}$	600 $\mu\text{L}$	1000 $\mu\text{L}$
		

#### 4. Monitorsynthese

Unmittelbar nach Abschalten der Spannungsversorgung wurde der Stempel heruntergefahren und die Monitorlösung in die Zelle überführt. Währenddessen wurde die Heizung auf die gewünschte Temperatur eingestellt. Die Zelle wurde verschlossen und für 15 min auf die gewünschte Temperatur erwärmt. Das zu untersuchende Reaktionsgemisch wurde anschließend über die Steigkanüle, V5, V4, V3 und V8 über eine Kieselgelkartusche zum Entfernen des überschüssigen Fluorids in das Endgefäß 1 überführt. Zur Spülung der Zelle wurde 1 mL MeCN aus dem Vorratsgefäß 5 in die Zelle und dann weiter in das Endgefäß 1 überführt.

#### 5. Radioanalytik

Über eine automatische Dosiereinheit konnte ein Aliquot des Reaktionsgemisches aus Endgefäß 1 für die Analytik in ein transportables Endgefäß 2 mit Septum und Bördelung überführt werden. Es folgten Radio-HPLC oder Radio-GC Untersuchungen zur Beurteilung des Syntheseerfolges.

Als Modellsubstanz für die Versuche mit den ionischen Flüssigkeiten TOMATf<sub>2</sub>N und AMITf<sub>2</sub>N wurde stets Anisol verwendet. Diese Versuche wurden je dreimal

durchgeführt. Nach elektrochemischer Behandlung von BMPTf<sub>2</sub>N wurden Synthesen mit Anisol, Phenol oder mit 4-Benzyloxyphenyltributylstannan als Nachweisreagenz durchgeführt.

*Tabelle 10: Modellsubstanzen und für Monitorsynthesen verwendete Reaktionsgemische*

Anisol	Phenol	4-Benzyloxyphenyl- tributylstannan
400 µL in 100 µL MeCN	470 mg in 150 µL MeCN	600 µL in 100 µL MeCN
Reaktionstemp.: 80 °C	50 °C	50 °C
Reaktionszeit: 15 min	15 min	10 min

## 4.4 Synthesen organischer Verbindungen

Die folgenden Synthesevorschriften sind weitgehend analog oder ähnlich zur Literatur durchgeführt worden. Von der jeweiligen Vorschrift abweichende Reaktionsbedingungen oder Aufreinigungsmethoden sind in Kapitel 3 näher erläutert.

### 4.4.1 Synthesen im Zusammenhang mit dem direkten und indirekten Nachweis des elektrophilen <sup>18</sup>F-Fluorierungsreagenzes Tf<sub>2</sub>N-[<sup>18</sup>F]F

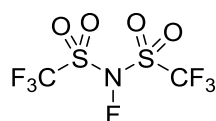
#### Direkte Fluorierung von *N*-Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid

Eine mit einem Ventil ausgestattete 160 mL Edelstahlflasche wurde vorbereitend mit elementarem Fluor passiviert. Unter Schutzgasbedingungen wurden 3,3 g (12 mmol) Bis(trifluormethylsulfonyl)amin in das perfluorierte Gefäß überführt. Bei -196 °C wurden N<sub>2</sub> und anschließend 2,1 bar (14 mmol) F<sub>2</sub> hinzukondensiert. Das ideale Gasgesetz lieferte für die benötigte Stoffmenge von F<sub>2</sub> den entsprechenden Partialdruck des elementaren Fluors bezogen auf das Volumen des Reaktors.

$$p_{F_2} = \frac{n_{F_2} \cdot R \cdot T}{V} = \frac{0,014 \text{ mol} \cdot 8,314 \frac{\text{J}}{\text{K mol}} \cdot 298 \text{ K}}{0,00016 \text{ m}^3} = 2,168 \text{ bar}$$

Das Gefäß wurde anschließend verschlossen und mit einem Heißluftfön vorsichtig auf Raumtemperatur gebracht. Nach einer Reaktionszeit von 14 h wurde durch

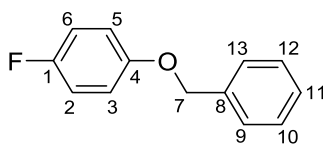
Evakuieren überschüssiges Fluor entfernt und über eine mit  $\text{Ca(OH)}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaOH}$  und  $\text{KOH}$  gefüllte Kartusche aufgefangen. Andere mögliche flüchtige Produkte wie  $\text{HF}$  wurden in eine mit 5 g  $\text{NaF}$  gefüllte Edelstahlflasche kondensiert, die über einen Zeitraum von 1 h immer wieder geschwenkt wurde. Dabei bildete sich festes  $\text{NaHF}_2$ .<sup>123</sup> Das Produkt wurde schließlich über eine Vakuumdestillation ( $-22\text{ °C} \rightarrow -55\text{ °C} \rightarrow -196\text{ °C}$ ) bei  $-55\text{ °C}$  an einem Vakuum-Argon-Rechen mit einer Ausbeute von 25 % (0,9 g; 3,0 mmol) erhalten. An der gleichen Anlage konnte ein IR-Spektrum des Produktes in der Gasphase aufgenommen werden. (nach 122)



IR (bei 14 mbar [ $\text{cm}^{-1}$ ]) 1471 (s); 1340 (w); 1244 (s); 1137 (s); 862 (s); 770 (w); 658 (w); 599 (s); 501 (m). (vgl. 219)

#### 4-Benzoyloxy-1-fluorbenzen

In 50 mL Aceton wurden 1,12 g (10 mmol) 4-Fluorphenol, 2,57 g (15 mmol) Benzylbromid und 2,07 g (15 mmol) Kaliumcarbonat suspendiert und unter Rückfluss gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, sobald das Edukt 4-Fluorphenol mittels DC nicht mehr nachweisbar war. Der Rückstand wurde in 50 mL VE-Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, vom Lösungsmittel befreit und anschließend säulenchromatographisch mit Petrolether 40-60 gereinigt ( $R_f = 0,3$ ). Das Produkt wurde als farblos kristalliner Feststoff erhalten. (nach 244)



Ausbeute	754 mg, 3,73 mmol, 37 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )	7,42-7,34 (m, 5H, H-9, 10, 11, 12, 13); 7,19-7,01 (s, 4H, H-2, 3, 5, 6); 5,09 (s, 2H, H-7).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )	157,1 (d, $^1J_{\text{CF}} = 236\text{ Hz}$ , C-1); 155,2 (d, $^4J_{\text{CF}} = 2\text{ Hz}$ , C-4); 137,4 (C-8); 129,3 (C-10, 12); 128,3 (C-11); 128,2

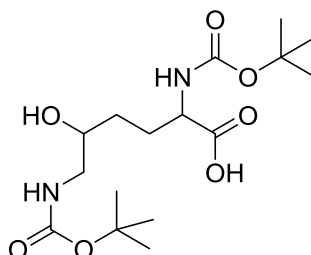
(C-9, 13); 116,5 (d,  $^3J_{\text{CF}} = 8$  Hz, C-3, 5); 116,3 (d,  $^2J_{\text{CF}} = 23$  Hz, C-2, 6); 70,2 (C-7).

$^{19}\text{F}$ -NMR (188,31 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ) -123,75.

#### 4.4.2 Synthese des iNOS-Inhibitors 6

##### 2,6-Bis-*tert*.-butoxycarbonylamino-5-hydroxyhexansäure (2)

Es wurden 1,0 g (4 mmol) 5-Hydroxylysin (Dihydrochlorid, Monohydrat; **1**) in 15 mL Dioxan und 20 mL 1M NaOH gelöst und unter Rühren im Eisbad mit 2,3 g (10 mmol) Di-*tert*.-butyldicarbonat versetzt. Anschließend wurde das Eisbad entfernt und die Lösung für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde das Dioxan unter vermindertem Druck weitestgehend entfernt (Differenzwägung zur Kontrolle der Abdampfung). Nach Zugabe von 15 mL Ethylacetat wurde im Eisbad unter Rühren so lange eine Lösung aus 1,1 g  $\text{KHSO}_4$  in 3,4 mL VE-Wasser zugetropft, bis ein pH-Wert von 3 erreicht wurde. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase wurde zweimal mit 10 mL Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit 5 mL VE-Wasser und einmal mit einer Lösung aus 5 mL VE-Wasser und 0,1 mL 5 %-iger  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Es entstanden 1,6 g eines farblos zähen Produktes, das ohne weitere Aufreinigung verwendet wurde. (nach 222)

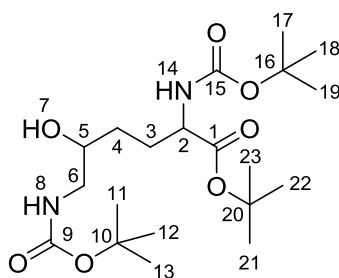


MS (ESI, m/z) 475,30  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

##### 2,6-Bis-*tert*.-butoxycarbonylamino-5-hydroxyhexansäure-*tert*.-butylester (3)

Es wurden 1,5 g (4,1 mmol) 2,6-Bis-*tert*.-butoxycarbonylamino-5-hydroxyhexansäure (**2**) in 4 mL Dichlormethan vorgelegt und mit einer Lösung aus 1,8 g (8,2 mmol) *tert*.-

Butyltrichloracetimidat in 16 mL Cyclohexan vorgelegt. Die Mischung wurde unter Rühren im Eisbad vorsichtig mit 20  $\mu$ L  $\text{BF}_3$ -Etherat versetzt und für 30 min im Eisbad gerührt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde eine Spatelspitze  $\text{NaHCO}_3$  zugegeben. Nach 30 weiteren Minuten unter Rühren wurde die entstandene Suspension über Kieselgel in einem Glasfilter Pore 4 filtriert und anschließend unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus 50 % n-Hexan in Ethylacetat gereinigt ( $R_f = 0,6$ ). Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde ein farblos zähes Produkt erhalten, das beim Abkühlen fest wurde. (nach 223)

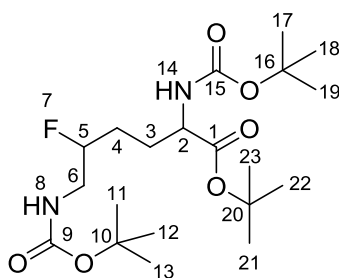


Ausbeute	803 mg, 1,92 mmol, 48 % (ausgehend von 5-Hydroxylysin)
$^1\text{H-NMR}$ (600,15 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	5,26 (s, 1H, H-14); 5,08 (s, 1H, H-8); 4,18 (d, $^3J = 3,6$ Hz, 1H, H-2); 3,69 (s, 1H, H-5); 3,26-2,97 (m, 2H, H-6); 1,94-1,90 (m, 1H, H-3); 1,68-1,62 (m, 1H, H-3); 1,54-1,46 (m, 2H, H-4); 1,44 (s, 9H, H-21, 22, 23); 1,41 (s, 18H, H-11, 12, 13, 17, 18, 19).
$^{13}\text{C-NMR}$ (150,92 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	171,8 (C-1); 156,7 (C-9); 155,8 (C-15); 82,0 (C-20); 79,9 (C-10); 79,5 (C-16); 70,9 (C-5); 53,5 (C-2); 46,6 (C-6); 30,1 (C-4); 29,7 (C-3); 28,4 (C-11, 12, 13); 28,3 (C-17, 18, 19); 28,0 (C-21, 22, 23).
HR-MS (ESI, m/z)	419,2753 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (57,40), H (9,15), N (6,69). Gef.: C (57,00 $\pm$ 0,09), H (9,33 $\pm$ 0,02), N (6,74 $\pm$ 0,01).

### 2,6-Bis-*tert*.-butoxycarbonylamino-5-fluorhexansäure-*tert*.-butylester (4)

In einem 25 mL Zweihalsrundkolben wurden unter Schutzgasbedingungen 660 mg (1,60 mmol) 2,6-Bis-*tert*.-butoxycarbonylamino-5-hydroxyhexansäure-*tert*.-butylester

(3) in 2 mL Dichlormethan gelöst und innerhalb einer Minute bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  mit 1 mL (2,35 mmol, 50 % in THF) Deoxofluor versetzt. Über Nacht wurde die Lösung passiv auf Raumtemperatur erwärmt. Nach einer Reaktionszeit von 17 h wurde das Gemisch mit 5 mL gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung versetzt. Sobald die  $\text{CO}_2$ -Entwicklung nachließ, wurde die wässrige Phase dreimal mit 15 mL Dichlormethan extrahiert, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus 50 % Ethylacetat in n-Hexan gereinigt ( $R_f = 0,8$ ). Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Produkt als farbloses Öl erhalten. (modifiziert nach 224)

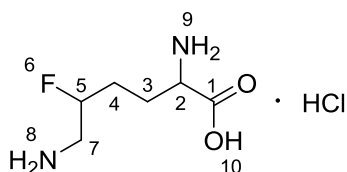


Ausbeute	195 mg, 0,46 mmol, 29 %
$^1\text{H-NMR}$ (600,15 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	5,12 (s, 1H, H-14); 5,04 (s, 1H, H-8); 4,47-4,39 (m, $^2J_{\text{HF}} = 48\text{ Hz}$ , 1H, H-5); 4,10-3,86 (m, 2H, H-6); 3,38-3,04 (m, 1H, H-2); 1,92-1,65 (m, 2H, H-3); 1,39-1,38 (m, 2H, H-4); 1,35 (s, 9H, H-21, 22, 23); 1,33 (s, 18H, H-11, 12, 13, 17, 18, 19).
$^{13}\text{C-NMR}$ (150,92 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	171,4 (C-1); 155,8 (C-9); 155,3 (C-15); 92,9 (d, $^1J_{\text{CF}} = 167\text{ Hz}$ , H-5); 81,7 (C-20); 79,4 (C-10); 79,3 (C-16); 57,8 (d, $^2J_{\text{CF}} = 20\text{ Hz}$ , C-6); 53,3 (C-2); 44,2 (d, $^2J_{\text{CF}} = 20\text{ Hz}$ , C-4); 28,5 (C-3); 28,2 (C-11, 12, 13); 28,1 (C-17, 18, 19); 27,8 (C-21, 22, 23).
$^{19}\text{F-NMR}$ (564,65 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	-92,14; -92,15.
HR-MS (ESI, m/z)	421,2710 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (57,12), H (8,87), N (6,66). Gef.: C (57,68 $\pm 0,05$ ), H (8,97 $\pm 0,05$ ), N (6,35 $\pm 0,02$ ).



### 5-Fluorlysin (5)

In einem 25 mL Rundkolben wurde eine Emulsion aus 890 mg (2,11 mmol) 2,6-Bis-*tert.*-butoxycarbonylamino-5-fluorhexansäure-*tert.*-butylester (**4**) in 12 mL 5 M Salzsäure für 2 h bei 60 °C intensiv gerührt. Mit einem Laufmittelgemisch aus 25 % Ethanol und 25 % wässriger Ammoniak-Lösung (25 %-ig) in Phenol wurde die Qualität der Umsetzung dünnschichtchromatographisch kontrolliert ( $R_f = 0,4$ ). Nach vollständiger Entschützung wurde das Reaktionsgemisch unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit und aus Ethanol umkristallisiert. (nach 225)



Ausbeute	194 mg, 0,97 mmol, 46 %
$^1\text{H-NMR}$ (400,13 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ )	4,85-4,72 (m, $^2J_{\text{HF}} = 52$ Hz, 1H, H-5); 3,68 (t, $^3J = 8,5$ Hz, 1H, H-2); 3,15-3,13 (m, 2H, H-7); 1,99-1,90 (m, 2H, H-3); 1,73-1,68 (m, 2H, H-4).
$^{13}\text{C-NMR}$ (100,62 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ )	174,0 (C-1); 90,1 (d, $^1J_{\text{CF}} = 169,6$ Hz, C-5); 54,1 (C-2); 42,6 (d, $^2J_{\text{CF}} = 20,0$ Hz, C-7); 27,4 (d, $^2J_{\text{CF}} = 19,9$ Hz, C-4); 25,7 (d, $^3J_{\text{CF}} = 3,9$ Hz, C-3).
$^{19}\text{F-NMR}$ (376,47 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ )	189,6-190,2 (m).
HR-MS (ESI, m/z)	165,1033 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (35,92), H (7,03), N (13,96). Gef.: C (34,83 $\pm 0,03$ ), H (7,06 $\pm 0,04$ ), N (13,32 $\pm 0,07$ ).

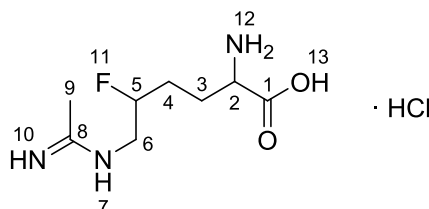
### 6-Acetimidylamin-2-amin-5-fluorhexansäure (6)

In einem 10 mL Rundkolben wurden 101 mg (0,46 mmol)  $\text{CuCO}_3$  zu einer Lösung von 150 mg (0,9 mmol) 5-Fluorlysin (**5**) in 1,5 mL VE-Wasser gegeben und mit ges. LiOH-Lösung auf pH 9 eingestellt. Anschließend wurde eine Lösung aus 146 mg (1,18 mmol) Ethylacetimidathydrochlorid in 150  $\mu\text{L}$  VE-Wasser ebenfalls mit ges. LiOH-Lösung auf pH 9 alkalisiert und in das Kupfer-Lysin-Gemisch überführt. Die entstandene Suspension färbte sich blau und wurde für 2 h bei RT gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch mit konz. HCl-Lösung auf pH 6 angesäuert und unter

vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Der blaue Rückstand wurde zur Befreiung von LiCl mehrfach mit Aceton beträufelt und kurz geschwenkt, bevor die flüssige Phase abdekantiert wurde.

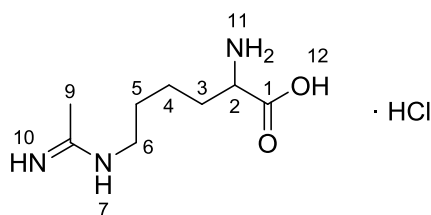
Nach Entfernung von Lösungsmittelresten unter vermindertem Druck wurde das Rohprodukt mittels semipräparativer HPLC aufgereinigt. Dazu wurde das Rohprodukt in 7 mL VE-Wasser gelöst und in 0,5 mL-Portionen auf eine 1 mL Probenschleife der HPLC gegeben. Zur Trennung wurde das HPLC System 1 und Methode 11 verwendet (vgl. 4.1.4). Nach Entfernen des Laufmittels unter vermindertem Druck blieb ein bläulich weißer Feststoff zurück, der in dieser Form als Standard für die HPLC-Methodenentwicklung verwendet wurde. (nach 226)

Für die Analytik wurde dieser Rückstand in 1,5 mL VE-Wasser gelöst. Durch Einleiten von H<sub>2</sub>S (FeS + konz. HCl (aq.) → H<sub>2</sub>S ↑; Waschflasche mit ges. NaOH-Lösung zum Entfernen vom überschüssigen H<sub>2</sub>S) mit Argon als Trägergas wurden die Cu<sup>2+</sup>-Ionen als CuS gefällt. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels wurde der erneut entstandene Rückstand in EtOH aufgenommen und fraktioniert mit Aceton und Ethylacetat gefällt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Produkt als farbloser Feststoff erhalten. Auf gleiche Weise wurde auch das nicht-fluorierte Derivat hergestellt.



Ausbeute	23 mg, 0,10 mmol, 12 %
<sup>1</sup> H-NMR (400,13 MHz, CD <sub>3</sub> OD)	4,60-4,79 (m, 1H, H-5); 4,01-3,91 (m, 1H, H-2); 3,70-3,41 (m, 2H, H-6); 2,17 (s, 3H, H-9); 2,09-1,66 (m, 4H, H-3, 4).
<sup>13</sup> C-NMR (100,62 MHz, CD <sub>3</sub> OD)	172,2 (C-1); 167,8 (C-8); 92,5 (d, <sup>1</sup> J <sub>CF</sub> = 176 Hz, C-5); 53,4 (C-2); 47,3 (d, <sup>2</sup> J <sub>CF</sub> = 22,0 Hz, C-6); 29,1 (d, <sup>2</sup> J <sub>CF</sub> = 21,1 Hz, C-4); 26,9 (C-3); 19,8 (C-9).
<sup>19</sup> F-NMR (376,47 MHz, CD <sub>3</sub> OD)	187,1.
HR-MS (ESI, m/z)	206,1299 [M+H] <sup>+</sup> .

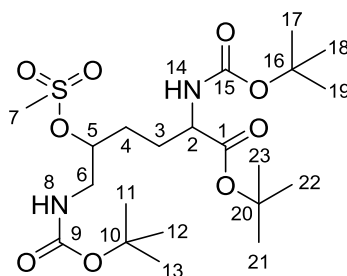
## 6-Acetimidylamin-2-aminhexansäure



Ausbeute	1,18 g, 5,27 mmol, 29 %
$^1\text{H-NMR}$ (400,13 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ )	3,56 (t, $^3J = 6,4$ Hz, 1H, H-2); 3,09 (t, $^3J = 6,8$ Hz, 2H, H-6); 2,03 (s, 3H, H-10); 1,70 (q, $^3J = 6,8$ Hz, 2H, H-3); 1,53-1,50 (m, $^3J = 7,2$ Hz, 2H, H-5); 1,21-1,35 (m, 2H, H-4).
$^{13}\text{C-NMR}$ (100,62 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ )	174,5 (C-1); 164,5 (C-8); 54,4 (C-2); 41,6 (C-6); 29,8 (C-5); 26,2 (C-3); 21,5 (C-8); 18,2 (C-10).
HR-MS (ESI, m/z)	188,1393 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

## 2,6-Bis-*tert*.-butoxycarbonylamino-5-methylsulfonyloxyhexansäure-*tert*.-butylester (7)

In einem 25 mL Zweihalsrundkolben wurden unter Schutzgasbedingungen 350 mg (0,9 mmol) 2,6-Bis-*tert*.-butoxycarbonylamino-5-hydroxyhexansäure-*tert*.-butylester (**3**) in 5 mL Dichlormethan und 0,3 mL Pyridin gelöst. Bei  $-30$  °C wurde unter Rühren eine mit Pyridin neutralisierte Lösung aus 0,2 g (1,2 mmol) Methansulfonsäureanhydrid und 0,9 mL Dichlormethan tropfenweise hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht passiv erwärmt. Nach einer Reaktionszeit von 12 h wurde die Lösung mit 5 mL Dichlormethan verdünnt. Die organische Phase wurde viermal mit Wasser extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Zur Entfernung von Pyridinrückständen wurde das Rohprodukt in 10 mL Dichlormethan gelöst und mit 0,1 mL Eisessig versetzt. Die Mischung wurde eingeeengt und mit 40 mL Pentan versetzt, filtriert und bei  $5$  °C gelagert. Nach zwei Tagen entstand ein farblos kristalliner Feststoff. Alternativ ließ sich das Produkt auch säulenchromatographisch mit einem Laufmittel aus n-Hexan und Ethylacetat im Verhältnis 1 : 1 aufreinigen ( $R_f = 0,7$ ).



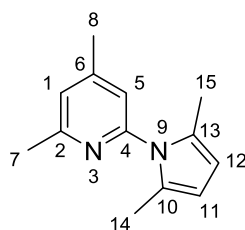
Ausbeute	293 mg, 0,59 mmol, 66 %
$^1\text{H-NMR}$ (600,15 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	5,13 (s, 1H, H-14); 4,97 (s, 1H, H-8); 4,76-4,72 (m, 1H, H-5); 4,18-4,14 (m, 1H, H-2); 3,46-3,28 (m, 2H, H-6); 3,04 (s, 3H, H-7); 1,95-1,68 (m, 4H, H-3, 4); 1,46 (s, 9H, H-21, 22, 23); 1,43 (s, 18H, H-11, 12, 13, 17, 18, 19).
$^{13}\text{C-NMR}$ (150,92 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	171,3 (C-1); 156,0 (C-9); 155,5 (C-15); 82,3 (C-20); 81,3 (C-5); 81,1 (C-10); 79,9 (C-16); 53,6 (C-2); 43,9 (C-6); 38,5 (C-7); 28,3 (C-11, 12, 13); 28,3 (C-17, 18, 19); 28,2 (C-3); 28,0 (C-4); 28,0 (C-21, 22, 23).
HR-MS (ESI, m/z)	497,2528 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (50,79), H (8,12), N (5,64). Gef.: C (50,88 $\pm$ 0,07), H (8,26 $\pm$ 0,04), N (5,74 $\pm$ 0,02).

#### 4.4.3 Synthese des iNOS-Inhibitors 18

##### 2-(2,5-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-4,6-dimethylpyridin (9)

20 g (164 mmol) 2-Amino-4,6-dimethylpyridin (**8**) wurden in 150 mL Toluol gelöst und anschließend mit 2 mL (35 mmol) Essigsäure sowie 200 mg (1,5 mmol) Natriumacetathexahydrat versetzt. Danach wurden 19 mL (170 mmol) Acetonylaceton zuge tropft und das Gemisch 48 h am Wasserabscheider zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Reaktionslösung mit je 50 mL 2,5 M wässriger NaOH-Lösung, Wasser und gesättigter, wässriger NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Zur Entfernung von überschüssigem Acetonylaceton wurde das Produkt noch etwa 3 h bei 80 °C und 10 mbar am Rotationsverdampfer behandelt. Anschließend wurde das Rohprodukt durch Säulenchromatographie über

Kieselgel-60 mit einem Laufmittelgemisch aus 5 % Methanol in Dichlormethan ( $R_f = 0,9$ ) gereinigt. (nach 196)

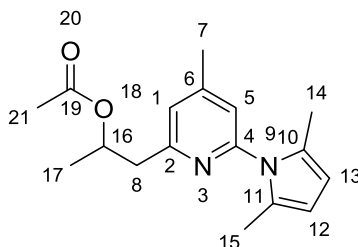


Ausbeute	20,04 g, 100,04 mmol, 62 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,05 (s, 1H, H-1); 6,90 (s, 1H, H-5); 5,92 (s, 2H, H-11,12); 2,59 (s, 3H, H-8); 2,43 (s, 3H, H-7); 2,18 (s, 6H, H-14,15).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,33 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	158,1 (C-4); 151,5 (C-2); 149,5 (C-6); 128,4 (C-10,13); 123,0 (C-1); 119,5 (C-5); 106,7 (C-11,12); 24,1 (C-8); 20,9 (C-7); 13,2 (C-14, 15).
MS (ESI, m/z)	201,05 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (77,96), H (8,05), N (13,99). Gef.: C (77,33 $\pm$ 0,13), H (8,01 $\pm$ 0,01), N (13,94 $\pm$ 0,04).

### 1-(6-(2,5-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)propan-2-ylacetat (10) und 1-(6-(2,5-dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)propan-2-ol (11)

Zu einer Suspension von 7,10 g (35,5 mmol) 2-(2,5-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-4,6-dimethylpyridin (**9**) in 150 mL Diethylether wurden unter Argon-Atmosphäre bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  16 mL (40 mmol) einer 1,6 M n-Butyllithium-Lösung in Hexan zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 30 min auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 10 min gerührt. Anschließend wurde das Gemisch wieder auf  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  abgekühlt und 6 mL (4,73 g, 107 mmol) Acetaldehyd zugetropft, bis die Lösung klar wurde. Das Gemisch wurde erneut auf  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  gekühlt und mit 60 mL Ethylacetat versetzt. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde die Lösung weitere 30 min gerührt. Nach beendeter Reaktion wurden 100 mL Wasser zugegeben und die Phasen mittels eines Scheidetrichters getrennt. Die wässrige Phase wurde zweimal mit je 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden dann mit 30 mL Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und anschließend das Lösungs-

mittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt (9,10 g) wurde durch Flash-Chromatographie über Silikagel gereinigt (Petrolether 40-60 / Ethylacetat 1:9, 1:4 und 1:1) Beide Produkte wurden als gelbe Öle erhalten. (nach 196)



Ausbeute

3,40 g, 11,86 mmol, 33 %

$^1\text{H-NMR}$  (200,13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

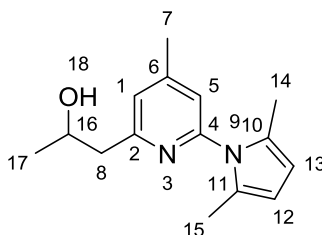
7,05 (s, 1H, H-1); 6,93 (s, 1H, H-5); 5,91 (s, 2H, H-12, 13); 5,36 (ddq,  $^3J = 6,3$  Hz, 1H, H-16); 3,11 (dd,  $^2J = 13,6$  Hz,  $^3J = 7,2$  Hz, 1H, H-8a); 3,03 (dd,  $^2J = 13,6$  Hz,  $^3J = 6,1$  Hz, 1H, H-8b); 2,44 (s, 3H, H-7); 2,11 (s, 6H, H-14, 15); 2,01 (s, 3H, H-21); 1,31 (d,  $^3J = 6,3$  Hz, 3H, H-17).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50,33 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

170,4 (C-19); 157,7 (C-4); 151,5 (C-2); 149,8 (C-6); 128,5 (C-10, 11); 123,4 (C-1); 120,7 (C-5); 106,8 (C-12, 13); 70,8 (C-16); 44,0 (C-8); 21,3 (C-7); 21,0 (C-21); 19,9 (C-17); 13,2 (C-14, 15).

MS (ESI, m/z)

287,04  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



Ausbeute

5,05 g, 20,70 mmol, 58 %

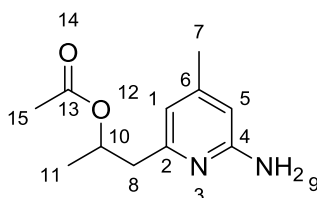
$^1\text{H-NMR}$  (200,13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

7,01 (s, 1H, H-1); 6,93 (s, 1H, H-5); 5,91 (s, 2H, H-12, 13); 4,23-4,10 (m, 1H, H-16); 2,93-2,90 (m, 2H, H-8); 2,43 (s, 3H, H-7); 2,16 (s, 6H, H-14, 15); 1,27 (d,  $^3J = 6,0$  Hz, 3H, H-17).

$^{13}\text{C}$ -NMR (50,33 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	159,7 (C-4); 151,1 (C-2); 150,1 (C-6); 128,5 (C-10, 11); 123,3 (C-1); 120,5 (C-5); 106,7 (C-12, 13); 67,1 (C-16); 45,0 (C-8); 23,0 (C-7); 21,0 (C-17); 13,2 (C-14, 15).
MS (ESI, m/z)	244,89 $[\text{M}]^+$ .

### 1-(6-Amino-4-methylpyridin-2-yl)propan-2-ylacetat (**12**)

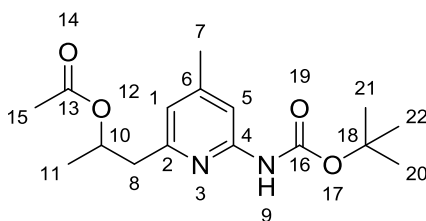
In einem 250 mL Dreihalskolben mit Rückflusskühler wurden 2,04 g (7,11 mmol) 1-(6-(2,5-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)propan-2-ylacetat (**10**) in 25 mL Ethanol vorgelegt. Dazu wurden 17,30 g Hydroxylaminhydrochlorid (248,89 mmol) in je 25 mL Wasser und Ethanol gegeben und das Gemisch für 3 h bei 90 °C zum Rückfluss erhitzt. Nach beendeter Reaktion wurden 10 mL gesättigte, wässrige Natriumcarbonatlösung zugegeben und das Reaktionsgemisch dreimal mit 25 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter, wässriger Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Silikagel gereinigt (90 % Ethylacetat, 5 % Petrolether 40-60, 5 % Triethylamin,  $R_f = 0,6$ ). (nach 196)



Ausbeute	0,88 g, 4,22 mmol, 20 %
$^1\text{H}$ -NMR (400,14 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	6,34 (s, 1H, H-1); 6,15 (s, 1H, H-5); 5,22 (ddq, $^3J = 6,4$ Hz, 6,4 Hz, 6,4 Hz, 1H, H-10); 4,65 (s, 2H, H-9); 2,87 (dd, $^2J = 13,5$ Hz, $^3J = 7,1$ Hz, 1H, H-8a); 2,68 (dd, $^2J = 13,5$ Hz, $^3J = 6,4$ Hz, 1H, H-8b); 2,17 (s, 3H, H-15); 1,98 (s, 3H, H-7); 1,23 (d, $^3J = 6,3$ Hz, 2H, H-11).
$^{13}\text{C}$ -NMR (100,62 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	170,6 (C-13); 158,3 (C-4); 155,7 (C-2); 149,2 (C-6); 115,0 (C-1); 107,0 (C-5); 70,8 (C-10); 43,9 (C-8); 21,3 (C-7); 20,9 (C-15); 19,8 (C-11).
MS (ESI, m/z)	209,08 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**1-(6-(*tert*.-Butoxycarbonylamino)-4-methylpyridin-2-yl)propan-2-yl-acetat (13)**

Eine Lösung aus 1,00 g (4,8 mmol) 1-(6-Amino-4-methylpyridin-2-yl)propan-2-yl-acetat (**12**) und 2,40 g Di-*tert*.-butyldicarbonat (11,1 mmol) in 30 mL *tert*.-Butanol wurde 6 h bei 65 °C gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie an Silikagel gereinigt (Petrolether 40-60/ Ethylacetat 6:1,  $R_f = 0,6$ ). Das Produkt wurde als farbloses Öl erhalten. (aus 196)

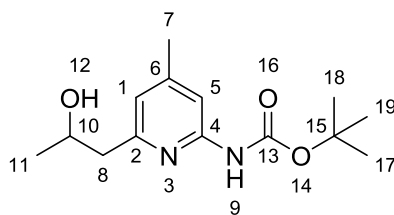


Ausbeute	1,15 g, 3,74 mmol, 78 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,65 (s, 1H, H-1); 7,30 (s, 1H, H-9); 6,68 (s, 1H, H-5); 5,39-5,25 (m, 1H, H-10); 2,95 (dd, $^2J = 13,5$ Hz, $^3J = 7,0$ Hz, 1H, H-8a); 2,78 (dd, $^2J = 13,5$ Hz, $^3J = 6,9$ Hz, 1H, H-8b); 2,34 (s, 3H, H-7); 2,00 (s, 3H, H-15); 1,54 (s, 9H, H-20, 21, 22); 1,28 (d, $^3J = 6,3$ Hz, 3H, H-11).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,33 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	170,5 (C-13); 152,4 (C-16); 151,0 (C-4); 150,0 (C-2); 138,9 (C-6); 119,6 (C-1); 110,5 (C-5); 80,8 (C-18); 70,5 (C-10); 43,8 (C-8); 28,3 (C-20, 21, 22); 27,4 (C-7); 21,3 (C-15); 19,8 (C-11).
MS (ESI, m/z)	309,14 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

***tert*.-Butyl-6-(2-hydroxypropyl)-4-methylpyridin-2-ylcarbamat (14)**

Zu einer Lösung von 850 mg (2,7 mmol) 1-(6-(*tert*.-Butoxycarbonylamino)-4-methylpyridin-2-yl)propan-2-ylacetat (**13**) in 15 mL Methanol wurde eine Lösung von 1,14 g Kaliumcarbonat (8,3 mmol) in 6 mL Wasser gegeben und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden 100 mL Wasser zugegeben. Die wässrige Phase wurde mit 2 x 50 mL Ethylacetat extrahiert und die organische Phase anschließend über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das entstandene Rohprodukt aus Petrolether 40-60 umkristallisiert. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten. (nach 196)

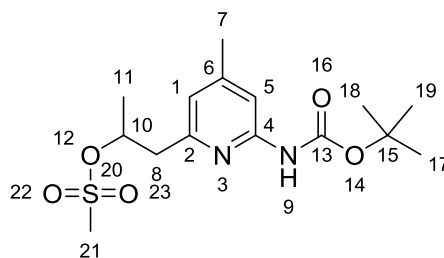




Ausbeute	490 mg, 1,84 mmol, 66 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,87 (s, 1H, H-1); 6,65 (s, 1H, H-5); 4,65 (b, 1H, H-12); 4,14-4,24 (m, 1H, H-10); 2,65-2,78 (m, 2H, H-8); 1,55 (s, 3H, H-7); 1,54 (s, 9H, H-17, 18, 19); 1,23 (d, $^3J = 6,0$ Hz, 3H, H-11).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,33 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	157,8 (C-13); 152,4 (C-4); 151,0 (C-2); 150,6 (C-6); 119,4 (C-1); 110,5 (C-5); 81,0 (C-15); 67,2 (C-10); 44,4 (C-8); 28,3 (C-17, 18, 19); 23,0 (C-7); 21,4 (C-11).
MS (ESI, m/z)	267,13 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (63,14), H (8,33), N (10,52). Gef.: C (63,02 $\pm$ 0,07), H (8,34 $\pm$ 0,01), N (10,40 $\pm$ 0,03).

### 1-(6-(*tert.*-Butoxycarbonylamino)-4-methylpyridin-2-yl)propan-2-ylmethan-sulfonat (15)

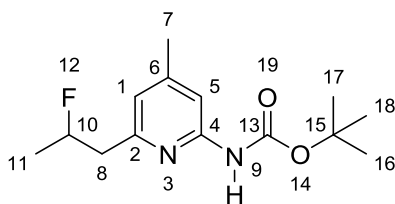
Zu einer Lösung aus 490 mg (1,8 mmol) *tert.*-Butyl-6-(2-hydroxypropyl)-4-methylpyridin-2-ylcarbamat (**14**) und 400  $\mu\text{L}$  Triethylamin (2,9 mmol) in 50 mL Dichlormethan wurden bei Raumtemperatur 155  $\mu\text{L}$  (230 mg, 2,0 mmol) Methansulfonylchlorid zugegeben und das Gemisch 1 h gerührt. Anschließend wurden 40 mL Wasser zugegeben. Das Zweiphasengemisch wurde im Scheidetrichter getrennt, die wässrige Phase zweimal mit je 50 mL Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter, wässriger Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt durch Säulenchromatographie über Silikagel gereinigt (Petrolether 40-60 / Ethylacetat 3:1,  $R_f = 0,6$ ). Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten. (aus 196)



Ausbeute	460 mg, 1,34 mmol, 73 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,69 (s, 1H, H-1); 7,36 (b, 1H, H-9); 6,72 (s, 1H, H-5); 5,23-5,13 (m, 1H, H-10); 3,03 (dd, $^2J = 13,5$ Hz, $^3J = 8,0$ Hz, 1H, H-8a); 2,91 (dd, $^2J = 13,5$ Hz, $^3J = 5,4$ Hz, 1H, H-8b); 2,64 (s, 3H, H-21); 2,34 (s, 3H, H-7); 1,54 (s, 9H, H-17, 18, 19); 1,46-1,42 (m, 3H, H-11).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,33 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	154,6 (C-13); 152,3 (C-4); 151,6 (C-2); 150,5 (C-6); 120,3 (C-1); 110,0 (C-5); 81,1 (C-15); 80,0 (C-10); 44,7 (C-8); 37,8 (C-21); 28,3 (C-17, 18, 19); 21,6 (C-7); 21,3 (C-11).
MS (ESI, m/z)	345,26 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (52,31), H (7,02), N (8,13). Gef.: C (50,99 $\pm 0,10$ ), H (7,11 $\pm 0,02$ ), N (7,85 $\pm 0,02$ ).

### **tert.-Butyl-(6-(2-fluoropropyl)-4-methylpyridin-2-yl)carbamat (16)**

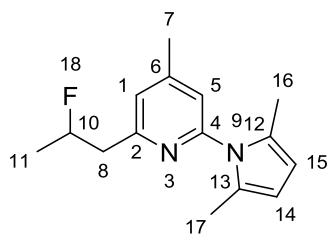
150 mg (0,60 mmol) *tert.*-Butyl-6-(2-hydroxypropyl)-4-methylpyridin-2-ylcarbamate (**14**) wurden in 10 mL trockenem Dichlormethan vorgelegt. Langsam wurden 120  $\mu\text{L}$  (460 mg, 0,90 mmol) Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) bei 0 °C zugetropft und die Lösung 30 min gerührt. Danach wurde das Eisbad entfernt und vorsichtig 10 mL gesättigte, wässrige Natriumhydrogencarbonatlösung zugegeben. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase zweimal mit 20 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (Petrolether 40-60 / Ethylacetat 19:1,  $R_f = 0,8$ ). (nach 196)



Ausbeute	70 mg, 0,27 mmol, 43 %
$^1\text{H-NMR}$ (400,14 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,37 (s, 1H, H-1); 7,05 (b, 1H, H-9); 6,43 (s, 1H, H-5); 4,84-4,67 (m, $^2J_{\text{HF}} = 36,0$ Hz, H-10); 2,49-2,75 (m, 2H, H-8); 2,04 (s, 3H, H-7); 1,23 (s, 9H, H-16, 17, 18); 1,09 (dd, $^3J_{\text{HF}} = 17,7$ Hz, $^3J = 7,2$ Hz, 3H, H-11).
$^{13}\text{C-NMR}$ (100,62 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	155,4 (C-13); 152,6 (C-4); 151,5 (d, $^3J_{\text{CF}} = 5,5$ Hz, C-2); 150,1 (C-6); 119,8 (C-1); 110,7 (C-5); 90,2 (d, $^1J_{\text{CF}} = 166,4$ Hz); 80,7 (C-15); 44,8 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21,8$ Hz); 28,2 (C-16, 17, 18); 21,3 (C-7); 20,8 (d, $^2J_{\text{CF}} = 22,2$ Hz, C-11).
$^{19}\text{F-NMR}$ (376,49 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	-172,26.
MS (ESI, m/z)	269,17 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (62,67), H (7,89), N (10,44). Gef.: C (63,19 $\pm 0,14$ ), H (8,01 $\pm 0,03$ ), N (10,34 $\pm 0,05$ ).

## 2-(2,5-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-6-(2-fluorpropyl)-4-methylpyridin (17)

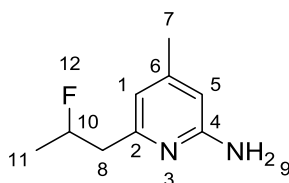
186 mg (0,76 mmol) 1-(6-(2,5-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)propan-2-ol (**11**) wurden in 10 mL trockenem Dichlormethan vorgelegt. Langsam wurden 110  $\mu\text{L}$  (150 mg, 1,13 mmol) Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) bei 0 °C zugetropft und die Lösung 30 min gerührt. Danach wurde das Eisbad entfernt und vorsichtig 10 mL gesättigte, wässrige Natriumhydrogencarbonatlösung zugegeben. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase zweimal mit 20 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch über Kieselgel gereinigt. (Petrolether 40-60 / Ethylacetat 9:1,  $R_f = 0,4$ ). (aus 196)



Ausbeute	46 mg, 0,19 mmol, 26 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,11 (s, 1H, H-1); 6,96 (s, 1H, H-5); 5,93 (s, 2H, H-14, 15); 5,33-5,02 (m, 1H, H-10); 3,20-2,97 (m, 2H, H-8); 2,45 (s, 3H, H-7); 2,22 (s, 6H, H-16, 17); 1,49 (dd, $^3J_{\text{HF}} = 20,0$ Hz, $^3J = 6,3$ Hz, 3H, H-11).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,33 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	157,2 (d, $^3J_{\text{CF}} = 4,4$ Hz, C-2); 151,67 (C-4); 149,8 (C-6); 128,5 (C-12, 13); 123,7 (d, $^4J_{\text{CF}} = 1$ Hz, C-1); 120,7 (C-5); 106,8 (C-14, 15); 90,3 (d, $^1J_{\text{CF}} = 167,2$ Hz, C-10); 45,3 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21,6$ Hz, C-8), 21,0 (d, $^2J_{\text{CF}} = 22,4$ Hz, C-11); 21,1 (C-7); 13,21 (C-16, 17).
$^{19}\text{F-NMR}$ (188 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	-172,81 (s).
MS (ESI, m/z)	246,98 $[\text{M}]^+$ .

### 6-(2-Fluorpropyl)-4-methylpyridin-2-amin (18)

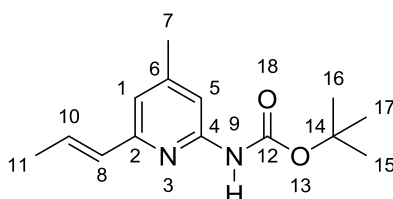
In einem 250 mL Dreihalskolben mit Rückflusskühler wurden 40 mg (0,24 mmol) 2-(2,5-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-6-(2-fluorpropyl)-4-methylpyridin (17) in 1,5 mL Ethanol vorgelegt. Dazu wurden 580 mg (8,35 mmol) Hydroxylaminhydrochlorid in je 1,5 mL Wasser und Ethanol gegeben, bevor das Gemisch für 3 h bei 90 °C zum Rückfluss erhitzt wurde. Nach beendeter Reaktion wurden 10 mL gesättigter, wässriger Natriumcarbonatlösung zugegeben und das Reaktionsgemisch dreimal mit 1,5 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter, wässriger Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie über Silikagel aufgereinigt (Ethylacetat,  $R_f = 0,2$ ). (nach 196)



Ausbeute	24 mg, 0,14 mmol, 60 %
UV-Absorption ( $\lambda_{\text{max}}$ , nm)	236, 290.
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	6,41 (s, 1H, H-1); 6,21 (s, 1H, H-5); 5,16-4,90 (m, 1H, H-10); 3,10-2,61 (m, 2H, H-8); 2,11 (s, H-7); 1,36 (dd, $^3J_{\text{HF}} = 23,8 \text{ Hz}$ , $^3J = 6,2 \text{ Hz}$ ).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,33 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	156,6 (C-4); 156,6 (d, $^3J_{\text{CF}} = 5,5 \text{ Hz}$ , C-2); 149,8 (C-6); 115,3 ( $^4J_{\text{CF}} = 1,1 \text{ Hz}$ , C-1); 107,4 (C-5); 90,3 (d, $^1J_{\text{CF}} = 167,2 \text{ Hz}$ , C-10); 44,8 ( $^2J_{\text{CF}} = 23,8 \text{ Hz}$ , C-8); 21,1 ( $^2J_{\text{CF}} = 22,8 \text{ Hz}$ , C-11), 19,9 (C-7).
$^{19}\text{F-NMR}$ (188 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	-171,63 (s).
MS (ESI, m/z)	169,14 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### (*E*)-*tert*.-Butyl-(4-methyl-6-(prop-1-en-1-yl)pyridin-2-yl)carbamate (**19**)

100 mg (0,29 mmol) des Markierungsvorläufers 1-(6-(*tert*.-Butoxycarbonylamino)-4-methylpyridin-2-yl)propan-2-yl-methansulfonat (**15**) wurden zusammen mit 400 mg (0,44 mmol) Natriumhydroxid in einem Gemisch aus 2 mL Methanol und 4 mL Wasser 2 h bei Raumtemperatur gerührt und der Reaktionsverlauf mithilfe von Dünnschichtchromatographie (Petrolether 60-40 / Ethylacetat 6:1,  $R_f = 0,9$ ) verfolgt. Nach vollständigem Umsatz wurde die Reaktionslösung dreimal mit 10 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde aufgrund großer Reinheit ohne weitere Aufreinigung zur HPLC-Kalibration verwendet.



Ausbeute	50 g, 0,21 mmol, 72 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,33 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,52 (s, 2H, 1H, H-5); 7,18 (s, 1H, H-1); 6,65 (dq, $^2J = 13,8$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, 1H, H-10); 6,33 (dd, $^3J = 15,5$ Hz, $^2J = 1,7$ Hz, 1H, H-8); 2,23 (s, 3H, H-7); 1,81 (d, $^3J = 6,8$ Hz, 3H, H-11); 1,43 (s, 9H, H-15, 16, 17).
$^{13}\text{C-NMR}$ (100,62 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	154,0 (C-4); 152,5 (C-2); 151,3 (C-12); 149,8 (C-6); 131,5 (C-10); 129,7 (C-8); 117,0 (C-1); 110,9 (C-5); 81,1 (C-13); 28,2 (C-15, 16, 17); 21,5 (C-7); 18,4 (C-11).
HR-MS (ESI, m/z)	249,1597 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (67,72), H (8,12), N (11,28). Gef.: C (65,66 $\pm 0,75$ ), H (7,98 $\pm 0,08$ ), N (10,65 $\pm 0,13$ ).

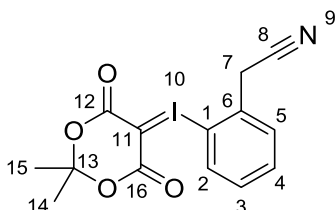
#### 4.4.4 Synthesen der Iodoniumylidvorläufer

##### Iodoniumylide (20) aus Iodphenylacetonitrilen

In einem 50 mL Braunglasrundkolben wurden 0,972 g (4 mmol) Iodphenylethylacetonitril (21) und 0,919 g (4 mmol) *m*CPBS in 10 mL DCM für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Parallel wurde in einem weiteren 50 mL Braunglasrundkolben eine Suspension aus 0,691 g (4,8 mmol) Meldrumsäure und 1,383 g (24,8 mmol) trockenem Kaliumhydroxidpulver in 10 mL DCM für 15 min gerührt. Anschließend wurde die aus der Iodverbindung und der *m*CPBS entstandene Suspension in den Kolben mit der deprotonierten Meldrumsäure gegeben. Zur vollständigen Überführung der Feststoffe aus dem Kolben mit dem Edukt wurde mithilfe von 5 mL DCM nachgespült. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch für weitere 3 h bei Raumtemperatur gerührt.

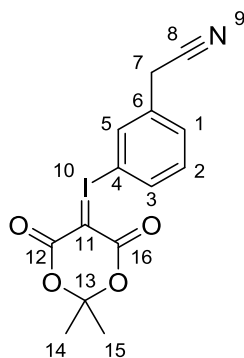
Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde die Suspension über Cellulose filtriert und der Filter mit 40 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Der ölige Rückstand wurde in wenigen Tropfen DCM aufgenommen und mit Hexan versetzt. Dabei fiel das Produkt als weißer Feststoff aus. Dieser wurde nach Filtration zur weiteren Aufreinigung erneut in DCM aufgenommen und mit Hexan gefällt. (nach 234)

### 2-Cyanomethylphenyliodonium-(5-[2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion])ylid (o-20)



Ausbeute	354 mg, 0,92 mmol, 23 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )	8,05 (d, $^3J = 7,6$ Hz, 1H, H-2); 7,70-7,64 (m, 2H, H-3, 5); 7,45-7,37 (m, 1H, H-4); 4,45 (s, 2H, H-7); 1,53 (s, 6H, H-14, 15).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,33 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )	163,4 (C-12, 16); 137,7 (C-2); 133,3 (C-4); 132,8 (C-6); 131,0 (C-5); 129,8 (C-3); 121,3 (C-1); 118,6 (C-8); 103,3 (C-13); 60,1 (C-11); 27,0 (C-7); 25,9 (C-14, 15).
HR-MS (ESI, m/z)	385,9886 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (43,66), H (3,14), N (3,64). Gef.: C (43,07 $\pm$ 0,10), H (3,13 $\pm$ 0,02), N (3,53 $\pm$ 0,02).

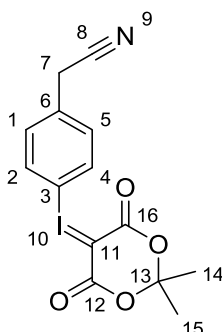
### 3-Cyanomethylphenyliodonium-(5-[2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion])ylid (m-20)



Ausbeute	416 mg, 1,05 mmol, 27 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )	7,84-7,72 (m, 2H, H-2, 3); 7,49-7,33 (m, 2H, H-1, 5); 3,88 (s, 2H, H-7); 1,62 (s, 6H, H-14, 15).

<sup>13</sup> C-NMR (50,33 MHz, (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO)	163,7 (C-12, 16); 136,9 (C-3); 133,8 (C-6); 132,1 (C-1); 131,6 (C-5); 130,8 (C-2); 117,5 (C-4); 116,4 (C-8); 103,7 (C-13); 57,4 (C-11); 26,0 (C-14, 15); 23,1 (C-7).
HR-MS (ESI, m/z)	385,9886 [M+H] <sup>+</sup> , 407,9703 [M+Na] <sup>+</sup> ; 423,9443 [M+K] <sup>+</sup> .
EA (%)	Ber.: C (43,66), H (3,14), N (3,64). Gef.: C (43,35 ± 0,08), H (3,14 ± 0,05), N (3,63 ± 0,01).

**3-Cyanomethylphenyliodonium-(5-[2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion])ylid**  
(p-20)



Ausbeute	401 mg, 1,04 mmol, 26 %
<sup>1</sup> H-NMR (200,13 MHz, (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO)	7,85 (d, <sup>3</sup> J = 8,5 Hz, 2H, H-2, 4); 7,42 (d, <sup>3</sup> J = 8,5 Hz, 2H, H-1, 5); 4,06 (s, 2H, H-7); 1,60 (s, 6H, H-14, 15).
<sup>13</sup> C-NMR (50,33 MHz, (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO)	163,4 (C-12, 16); 138,1 (C-2, 4); 134,6 (C-6); 130,9 (C-1, 5); 118,6 (C-8); 115,6 (C-3); 103,2 (C-13); 58,3 (C-11); 26,1 (C-14, 15); 22,8 (C-7).
HR-MS (ESI, m/z)	385,9888 [M+H] <sup>+</sup> ; 407,9706 [M+Na] <sup>+</sup> ; 423,9446 [M+K] <sup>+</sup> .
EA (%)	Ber.: C (43,66), H (3,14), N (3,64). Gef.: C (42,28 ± 0,05), H (3,10 ± 0,01), N (3,80 ± 0,01).

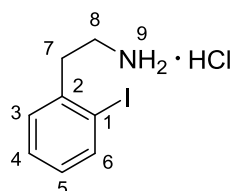
**Iodphenylethylaminhydrochloride (22)**

Zu einer Lösung aus 1,00 g (4,11 mmol) Iodphenylacetonitril in 6 mL trockenem THF wurde tropfenweise bei 0 °C 10 mL (10 mmol) einer 1 M Lösung von BH<sub>3</sub> in THF hinzugegeben. Nach 2 h Rühren unter Rückfluss wurden der Reaktionslösung tropfenweise 4 mL Ethanol und anschließend unter Kühlung im Eisbad 6 mL einer



2 M Lösung von HCl in Diethylether zugegeben. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Produkt quantitativ als farbloser kristalliner Feststoff erhalten und ohne Aufreinigung für weitere Synthesen verwendet. Für die Charakterisierung wurde das Produkt aus Ethanol umkristallisiert. (nach 232)

### 2-Iodphenylethylaminhydrochlorid (**o-22**)

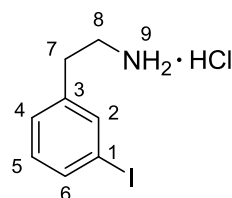


$^1\text{H-NMR}$  (200,13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ) 8,24 (b, 3H, H-9); 7,86 (d,  $^3J = 7,4$  Hz, 1H, H-6); 7,37 (s, 2H, H-3, 5); 7,02 (m, 1H, H-4); 3,0 (s, 4H, H-7, 8).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50,33 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ) 140,6 (C-2); 139,8 (C-6); 130,4 (C-3); 129,4 (C-4); 129,3 (C-5); 101,3 (C-1); 39,1 (C-8); 38,2 (C-7).

HR-MS (ESI, m/z) 247,9979  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 3-Iodphenylethylaminhydrochlorid (**m-22**)

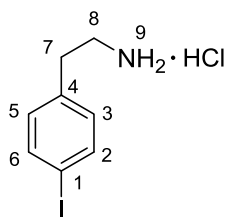


$^1\text{H-NMR}$  (200,13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ) 8,30 (b, 3H, H-9); 7,64 (m, 2H, H-2,6); 7,31 (d,  $^3J = 7,5$  Hz, 1H, H-4); 7,14 (t,  $^3J = 7,5$  Hz, 1H, H-5); 2,91-3,06 (m, 4H, H-7, 8).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50,33 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ) 140,7 (C-3); 137,7 (C-6); 135,9 (C-5); 131,2 (C-4); 128,7 (C-2); 95,7 (C-1); 40,1 (C-8); 32,8 (C-7).

HR-MS (ESI, m/z) 247,9931  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

EA (%) Ber.: C (33,89), H (3,91), N (4,94). Gef.: C (34,14  $\pm$  0,13), H (3,95  $\pm$  0,02), N (4,78  $\pm$  0,02).

**4-Iodphenylethylaminhydrochlorid (p-22)**

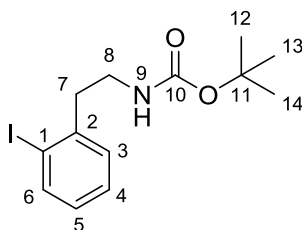
$^1\text{H-NMR}$  (600,15 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ) 8,16 (b, 3H, H-9); 7,68 (d,  $^3J = 6,0$  Hz, 2H, H-2, 6); 7,10 (d,  $^3J = 6,0$  Hz, 2H, H-3, 5); 3,00 (t,  $^3J = 6,5$  Hz, 2H, H-7); 2,87 (t,  $^3J = 6,5$  Hz, 2H, H-8).

$^{13}\text{C-NMR}$  (150,92 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ) 137,8 (C-2, 6); 137,7 (C-4); 131,6 (C-3, 5); 93,1 (C-1); 40,0 (C-8); 32,9 (C-7).

HR-MS (ESI, m/z) 247,9930  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**tert.-Butyl-(iodphenylethyl)carbamate (23)**

Eine Suspension aus 283 mg (1 mmol) des Ammoniumsalz **22**, 218 mg (1 mmol)  $\text{Boc}_2\text{O}$  und 250 mg (3 mmol)  $\text{NaHCO}_3$  in 5 mL Methanol wurde für 30 min bei 50 °C im Ultraschallbad behandelt. Nach Filtration der Rückstände wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das entstandene Rohprodukt wurde in Silikagel aufgenommen und säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus 20 % Ethylacetat in Petrolether 40-60 aufgereinigt ( $R_f = 0,6$  (*ortho*, *para*); 0,5 (*meta*)). Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das reine Produkt als farbloses Öl erhalten. (nach 233)

**tert.-Butyl-(2-iodphenylethyl)carbamate (o-23)**

Ausbeute 306 mg, 0,88 mmol, 88 %

$^1\text{H-NMR}$  (200,13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 7,85 (dd,  $^3J = 7,9$  Hz,  $^4J = 1,00$  Hz, 1H, H-6); 7,25 (dd,  $^3J = 7,6$  Hz,  $^4J = 2,10$  Hz, 1H, H-3); 7,32 (dt,  $^3J = 6,5$  Hz,  $^4J = 1,00$  Hz, 1H, H-4); 6,95 (dt,  $^3J = 7,8$  Hz,  $^4J$

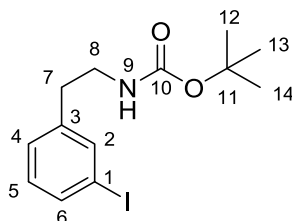
= 2,1 Hz, 1H, H-5); 4,63 (b, 1H, H-9); 3,40 (t,  $^3J$  = 7,1 Hz, 2H, H-8); 2,77 (t,  $^3J$  = 7,2 Hz, 2H, H-7); 1,48 (s, 9H, H-12, 13, 14).

$^{13}\text{C}$ -NMR (50,33 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 155,9 (C-10); 141,7 (C-2); 139,6 (C-6); 130,1 (C-3); 128,5 (C-4); 128,4 (C-5); 100,7 (C-1); 79,4 (C-11); 40,9 (C-8); 28,4 (C-12, 13, 14).

HR-MS (ESI, m/z) 370,0305  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

EA (%) Ber.: C (44,97), H (5,23), N (4,03). Gef.: C (44,64  $\pm$  0,11), H (5,18  $\pm$  0,02), N (3,65  $\pm$  0,08).

### ***tert.*-Butyl-(3-iodophenylethyl)carbamat (*m*-23)**



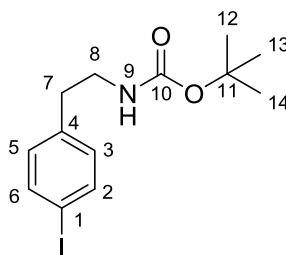
Ausbeute 326 mg, 0,94 mmol, 94 %

$^1\text{H}$ -NMR (200,13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 7,61-7,58 (m, 2H, H-2, 6); 7,21-7,03 (m, 2H, H-4, 5); 3,38 (t,  $^3J$  = 6,7 Hz, 2H, H-8); 2,77 (t,  $^3J$  = 7,0 Hz, 2H, H-7); 1,48 (s, 9H, H-12, 13, 14).

$^{13}\text{C}$ -NMR (50,33 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 155,8 (C-10); 141,5 (C-3); 137,8 (C-2); 135,5 (C-6); 130,3 (C-5); 128,1 (C-4); 94,6 (C-1); 79,3 (C-11); 42,1 (C-8); 35,8 (C-7); 28,4 (C-12, 13, 14).

HR-MS (ESI, m/z) 348,0451  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; 370,0282  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

EA (%) Ber.: C (44,97), H (5,23), N (4,03). Gef.: C (45,39  $\pm$  0,06), H (5,27  $\pm$  0,03), N (3,95  $\pm$  0,03).

***tert.*-Butyl-(4-iodphenylethyl)carbamat (*p*-23)**

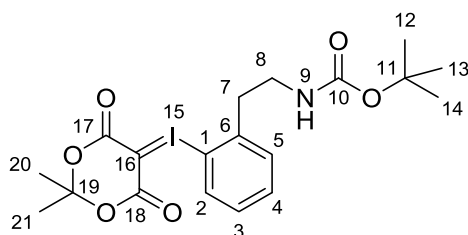
Ausbeute	333 mg, 0,96 mmol, 96 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,64 (dt, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 1,9$ Hz, 2H, H-2, 6); 7,32 (dt, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 1,9$ Hz, 2H, H-3, 5); 4,45 (b, 1H, H-9); 3,37 (t, $^3J = 6,9$ Hz, 2H, H-8); 2,77 (t, $^3J = 7,0$ Hz, 2H, H-7); 1,46 (s, 9H, H-12, 13, 14).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,32 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	155,9 (C-10); 138,7 (C-4); 137,6 (C-2, 6); 130,9 (C-3, 5); 91,6 (C-1); 79,5 (C-11); 41,8 (C-8); 35,8 (C-7); 28,4 (C-12, 13, 14).
HR-MS (ESI, m/z)	348,0467 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; 370,0291 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (44,97), H (5,23), N (4,03). Gef.: C (45,29 $\pm$ 0,04), H (5,24 $\pm$ 0,01), N (3,75 $\pm$ 0,03).

**Iodoniumylide (24) aus *tert.*-Butyl-(iodphenylethyl)carbamaten - Meldrumsäure-Ylide**

In einem 50 mL Braunglasrundkolben wurden 1,00 g (2,88 mmol) *tert.*-Butyl(iodphenylethyl)carbamate und 662 mg (2,88 mmol) *m*CPBS in 8 mL DCM für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Parallel wurde in einem weiteren 50 mL Braunglasrundkolben 498 mg (3,45 mmol) Meldrumsäure und 960 mg (17,11 mmol) Kaliumhydroxidpulver in 8 mL DCM für 15 min zu einer Suspension verrührt. Anschließend wurde die aus der Iodverbindung und der *m*CPBS entstandene Suspension in den Kolben mit der deprotonierten Meldrumsäure gegeben. Zur vollständigen Überführung der Feststoffe aus dem Kolben mit dem Edukt wurde mithilfe von 5 mL DCM nachgespült. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch für weitere 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurden etwa 20 mL DCM und 30 mL VE-Wasser hinzugegeben. Die wässrige Phase wurde dreimal mit 20 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über

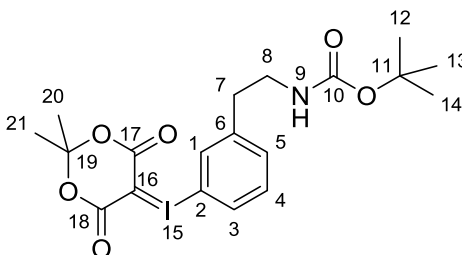
MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Das gelbliche Rohprodukt wurde in Silikagel aufgenommen und säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus 50 % Ethylacetat und 50 % Aceton gereinigt (mit 100 % Ethylacetat als Laufmittel R<sub>f</sub> = 0,2 (*para*), 0,4 (*ortho*)). Nach Entfernen des Lösungsmittels konnte ein leicht gelbliches, kristallines Produkt isoliert werden. (modifiziert nach 234)

**2-*tert.*-Butoxycarbonylaminoethylphenyliodonium-(5-[2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion])ylid (o-24)**



Ausbeute	648 mg, 1,32 mmol, 46 %
<sup>1</sup> H-NMR (600,15 MHz, (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO)	7,95 (d, <sup>3</sup> J = 6,0 Hz, 1H, H-2); 7,52 (t, <sup>3</sup> J = 6,0 Hz, 1H, H-4); 7,42 (d, <sup>3</sup> J = 6,0 Hz, 1H, H-5); 7,26 (t, <sup>3</sup> J = 6,0 Hz, 1H, H-3); 3,28 (t, <sup>3</sup> J = 6,0 Hz, 1H, H-8); 3,06 (t, <sup>3</sup> J = 6,0 Hz, 1H, H-7); 1,52 (s, 6H, H-20, 21); 1,37 (s, 9H, H-12, 13, 14).
<sup>13</sup> C-NMR (150,92 MHz, (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO)	163,2 (C-17, 18); 156,1 (C-10); 141,4 (C-6); 136,6 (C-2); 132,0 (C-3); 130,7 (C-4); 129,5 (C-5); 122,6 (C-1); 103,1 (C-19); 78,2 (C-11); 59,2 (C-16); 41,0 (C-8); 38,5 (C-7); 28,4 (C-12, 13, 14); 25,7 (C-20, 21).
HR-MS (ESI, m/z)	512,0547 [M+Na] <sup>+</sup> ; 528,0286 [M+K] <sup>+</sup> .
EA (%)	Ber.: C (46,64), H (4,94), N (2,86). Gef.: C (47,20 ± 0,10), H (5,48 ± 0,02), N (2,75 ± 0,03).

**3-*tert*.-Butoxycarbonylaminoethylphenyliodonium-(5-[2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion])ylid (*m*-24)**



Ausbeute

606 mg, 1,24 mmol, 43 %

$^1\text{H-NMR}$  (200,13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )

7,68-7,62 (m, 2H, H-3, 4); 7,40-7,37 (m, 2H, H-1, 5); 3,16 (t,  $^3J = 6,7$  Hz, 2H, H-8); 2,73 (t,  $^3J = 6,9$  Hz, 2H, H-7); 1,59 (s, 6H, H-20, 21); 1,38 (s, 9H, H-12, 13, 14).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50,33 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )

163,3 (C-17, 18); 156,0 (C-10); 143,1 (C-6); 133,0 (C-3); 131,3 (C-4); 130,7 (C-1); 116,8 (C-5); 103,2 (C-19); 102,5 (C-2); 78,1 (C-11); 58,2 (C-16); 41,6 (C-8); 35,6 (C-7); 28,4 (C-12, 13, 14); 25,8 (C-20, 21).

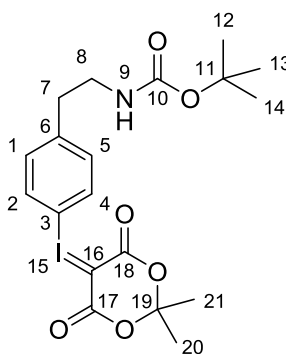
HR-MS (ESI, m/z)

490,0724  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; 528,0282  $[\text{M}+\text{K}]^+$ .

EA (%)

Ber.: C (46,64), H (4,94), N (2,86). Gef.: C (46,10  $\pm$  0,09), H (5,05  $\pm$  0,04), N (3,06  $\pm$  0,05).

**4-*tert*.-Butoxycarbonylaminoethylphenyliodonium-(5-[2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion])ylid (*p*-24)**



Ausbeute

634 mg, 1,30 mmol, 45 %

$^1\text{H-NMR}$  (200,13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )

7,73 (d,  $^3J = 8,4$  Hz, 2H, H-2, 4); 7,28 (d,  $^3J = 8,4$  Hz, 2H, H-1, 5); 3,17 (t,  $^3J = 6,8$  Hz, 2H, H-8); 2,73 (t,  $^3J = 6,9$  Hz, 2H, H-7); 1,58 (s, 6H, H-20, 21); 1,36 (s, 9H, H-

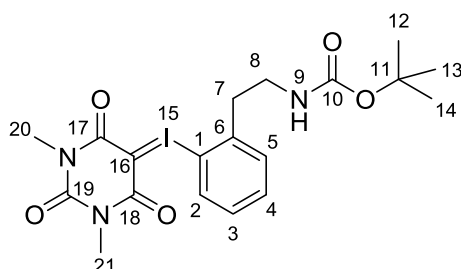
	12, 13, 14).
$^{13}\text{C}$ -NMR (50,33 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )	163,4 (C-17, 18); 156,1 (C-10); 143,2 (C-6); 133,1 (C-2, 4); 131,7 (C-1, 5); 113,2 (C-3); 103,3 (C-19); 78,1 (C-11); 58,3 (C-16); 41,3 (C-8); 35,4 (C-7); 28,5 (C-12, 13, 14); 25,9 (C-20, 21).
HR-MS (ESI, m/z)	490,0765 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; 512,0592 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; 528,0329 $[\text{M}+\text{K}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (46,64), H (4,94), N (2,86). Gef.: C (46,59 $\pm$ 0,05), H (5,24 $\pm$ 0,02), N (2,98 $\pm$ 0,02).

### Iodoniumylide (25) aus *tert*.-Butyl-(iodphenylethyl)carbamaten (Barbitursäure-Ylide)

In einem 50 mL Braunglasrundkolben wurden 1,00 g (2,88 mmol) *tert*.-Butyl(iodphenylethyl)carbammat und 0,662 g (2,88 mmol) *m*CPBS in 8 mL DCM für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Parallel wurde in einem weiteren 50 mL Braunglasrundkolben 0,539 g (3,45 mmol) Barbitursäure und 0,960 g (17,11 mmol) Kaliumhydroxidpulver in 8 mL DCM für 15 min zu einer Suspension verrührt. Anschließend wurde die aus der Iodverbindung und der *m*CPBS entstandene Suspension in den Kolben mit der deprotonierten Barbitursäure gegeben. Zur vollständigen Überführung der Feststoffe aus dem Kolben mit dem Edukt wurde mithilfe von 5 mL DCM nachgespült. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch für weitere 3 h bei Raumtemperatur gerührt.

Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde die Suspension über Cellulose filtriert und der Filter mit 40 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Der ölige Rückstand wurde in wenigen Tropfen DCM aufgenommen und in einen 50 mL Rundkolben mit 20 mL Hexan getropft. Dabei fiel das Produkt als weißer Feststoff aus. Dieser wurde nach Filtration zur weiteren Aufreinigung erneut in DCM aufgenommen und erneut mit Hexan gefällt. (nach 234)

**2-*tert*.-Butoxycarbonylaminoethylphenyliodonium-(5-[1,3-dimethyl-2,4,6-trioxotetrahydropyrimidin])ylid (o-25)**



Ausbeute 303 mg, 0,60 mmol, 21 %

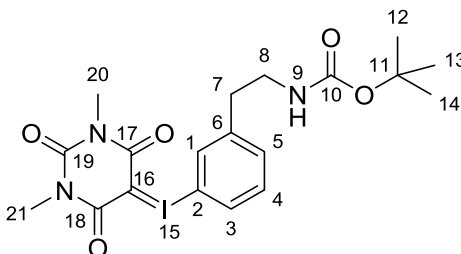
$^1\text{H-NMR}$  (200,13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ) 7,99 (d,  $^3J = 7,7$  Hz, 1H, H-2); 7,56-7,41 (m, 2H, H-4, 5); 7,25 (t,  $^3J = 6,5$  Hz, 1H, H-3); 3,36-3,22 (m, 2H, H-8); 3,16 (s, 6H, H-20, 21); 3,05-3,15 (m, 2H, H-7); 1,36 (s, 9H, H-12, 13, 14).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50,32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ) 161,5 (C-19); 156,7 (C-17, 18); 156,0 (C-10); 151,1 (C-6); 142,3 (C-2); 130,5 (C-4); 128,9 (C-3); 128,8 (C-5); 122,6 (C-1); 78,0 (C-11); 55,3 (C-16); 40,6 (C-8); 38,5 (C-7); 28,9 (C-20, 21); 28,7 (C-12, 13, 14).

HR-MS (ESI, m/z) 524,0682  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; 540,0421  $[\text{M}+\text{K}]^+$ .

EA (%) Ber.: C (45,52), H (4,83), N (8,38). Gef.: C (43,96  $\pm$  0,31), H (4,68  $\pm$  0,04), N (7,73  $\pm$  0,06).

**3-*tert*.-Butoxycarbonylaminoethylphenyliodonium-(5-[1,3-dimethyl-2,4,6-trioxotetrahydropyrimidin])ylid (m-25)**



Ausbeute 274 mg, 0,54 mmol, 19 %

$^1\text{H-NMR}$  (200,13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$  + 7,57 (s, 1H, H-1); 7,56 (d,  $^3J = 6,6$  Hz, 1H, H-3); 7,22 (d,  $^3J = 7,2$  Hz, 1H, H-5); 7,10 (t,  $^3J = 7,7$  Hz, 1H, H-4);

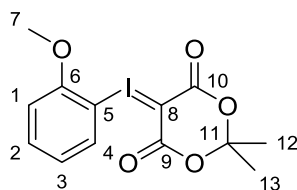


20 % CD <sub>3</sub> OD)	3,22-3,06 (m, 8H, H-8, 20, 21); 2,67 (t, <sup>3</sup> J = 6,9 Hz, 2H, H-7); 1,37 (s, 9H, H-12, 13, 14).
<sup>13</sup> C-NMR (50,33 MHz, (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO + 20 % CD <sub>3</sub> OD)	161,5 (C-19); 156,7 (C-17, 18); 156,0 (C-10); 151,0 (C-6); 142,8 (C-3); 137,8 (C-4); 135,2 (C-1); 130,9 (C-5); 95,2 (C-2); 78,0 (C-11); 55,3 (C-16); 41,6 (C-8); 35,2 (C-7); 28,9 (C-20, 21); 28,7 (C-12, 13, 14).

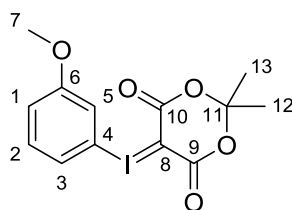
### Iodoniumylide (42) aus Iodanisolderivaten

Die folgenden Verbindungen wurden analog zur Vorschrift von Verbindung **24** synthetisiert. Dabei wurden jeweils 1,500 g (6,45 mmol) des entsprechenden Iodanisolderivates eingesetzt. (aus 234)

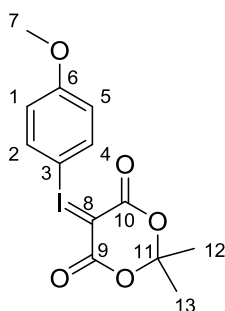
#### 2-Methoxyphenyliodonium-(5-[2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion])ylid (o-42)



Ausbeute	1,070 g, 2,84 mmol, 44 %
<sup>1</sup> H-NMR (200,13 MHz, (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO)	7,58-7,50 (m, 2H, H-2, 4); 7,24-7,19 (m, 1H, H-3); 7,11-7,03 (m, 1H, H-1); 4,04 (s, 3H, H-7); 1,60 (s, 6H, H-12, 13).
<sup>13</sup> C-NMR (50,33 MHz, (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO)	163,2 (C-9, 10); 156,7 (C-6); 133,1 (C-4); 132,6 (C-2); 123,7 (C-3); 113,0 (C-1); 104,7 (C-5); 103,3 (C-11); 57,2 (C-8); 54,6 (C-7); 25,8 (C-12, 13).
HR-MS (ESI, m/z)	376,9880 [M+H] <sup>+</sup> ; 398,9699 [M+Na] <sup>+</sup> ; 414,9440 [M+K] <sup>+</sup> .
EA (%)	Ber.: C (41,51), H (3,48). Gef.: C (41,53 ± 0,07), H (3,51 ± 0,02).

**3-Methoxyphenyliodonium-(5-[2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion])ylid (*m*-42)**

Ausbeute	1,010 g, 2,68 mmol, 42 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )	7,39-7,33 (m, 3H, H-2, 3, 5); 7,15-7,09 (m, 1H, H-1); 3,79 (s, 3H, H-7); 1,60 (s, 6H, H-12, 13).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,33 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )	163,5 (C-9, 10); 160,7 (C-6); 132,0 (C-2); 124,5 (C-3); 118,3 (C-4); 116,7 (C-1, 5); 103,3 (C-11); 58,2 (C-8); 55,9 (C-7); 25,9 (C-12, 13).
HR-MS (ESI, m/z)	376,9880 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; 398,9700 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; 414,9440 $[\text{M}+\text{K}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (41,51), H (3,48). Gef.: C (41,90 $\pm$ 0,04), H (3,56 $\pm$ 0,02).

**4-Methoxyphenyliodonium-(5-[2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion])ylid (*p*-42)**

Ausbeute	978 mg, 2,60 mmol, 41 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )	7,74 (d, $^3J = 7,0$ Hz, 2H, H-1, 5); 7,00 (d, $^3J = 7,1$ Hz, 2H, H-2, 4); 3,74 (s, 3H, H-7); 1,57 (s, 6H, H-12, 13).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,33 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )	163,4 (C-9, 10); 161,7 (C-6); 135,2 (C-2, 4); 117,0 (C-3); 106,1 (C-1, 5); 103,2 (C-11); 58,9 (C-8); 55,8 (C-7); 25,8 (C-12, 13).

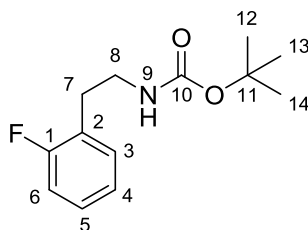
HR-MS (ESI, m/z)	376,9880 [M+H] <sup>+</sup> ; 398,9700 [M+Na] <sup>+</sup> ; 414,9440 [M+K] <sup>+</sup> .
EA (%)	Ber.: C (41,51), H (3,48). Gef.: C (41,33 ± 0,06), H (3,70 ± 0,02).

#### 4.4.5 Synthese des nNOS-Inhibitors **32** über eine Aufbausynthese

##### Synthese von *tert*.-Butyl-(fluorphenylethyl)carbamaten (**27**)

Zu einer Mischung des Amins **26** (0,139 g, 1 mmol) in 2 mL Methanol wurde Boc<sub>2</sub>O (0,218 g, 1 mmol) gegeben und für 30 min bei 50 °C im Ultraschallbad behandelt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt bevor das Rohprodukt säulenchromatographisch (Petrolether 40-60 / Ethylacetat, 4:1) aufgereinigt wurde. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck konnte das reine Produkt als farblos viskoses Öl erhalten werden. Das Entfernen überschüssiger Edukte gelang mittels säulenchromatographischer Aufreinigung mit einem Laufmittelgemisch aus 20 % Ethylacetat in Petrolether 40-60 (*R<sub>f</sub>* = 0,6 (*ortho*, *para*); 0,5 (*meta*)). (nach 233)

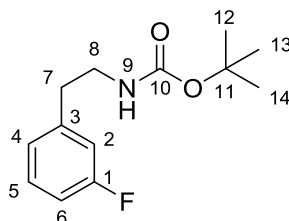
##### *tert*.-Butyl-(2-fluorphenylethyl)carbammat (**o-27**)



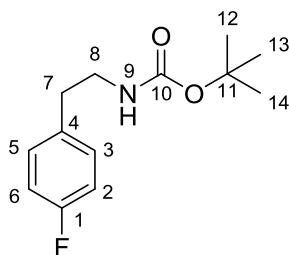
Ausbeute	232 mg, 0,97 mmol, 97 %
<sup>1</sup> H-NMR (200,13 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	7,00-7,30 (m, 4H, H-3, 4, 5, 6); 4,70 (b, 1H, H-9); 3,40 (t, <sup>3</sup> J = 7,0 Hz, 2H, H-8); 2,87 (t, <sup>3</sup> J = 7,0 Hz, 2H, H-7); 1,46 (s, 9H, H-12).
<sup>13</sup> C-NMR (50,33 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	161,3 (d, <sup>1</sup> J <sub>CF</sub> = 245 Hz, C-1); 155,9 (C-10); 131,2 (d, <sup>3</sup> J <sub>CF</sub> = 5 Hz, C-3); 128,2 (d, <sup>3</sup> J <sub>CF</sub> = 8 Hz, C-5); 125,9 ( <sup>2</sup> J <sub>CF</sub> = 16 Hz, C-2); 124,1 (d, <sup>4</sup> J <sub>CF</sub> = 4 Hz, C-4); 115,3 (d, <sup>2</sup> J <sub>CF</sub> = 22 Hz, C-6); 79,3 (C-11); 40,8 (C-8); 29,8 (C-7); 28,4 (C-12, 13, 14).

$^{19}\text{F}$ -NMR (188,31 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	-118,6.
HR-MS (ESI, m/z)	262,1214 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (65,25), H (7,58), N (5,85). Gef.: C (65,03 $\pm$ 0,04), H (7,62 $\pm$ 0,06), N (5,85 $\pm$ 0,05).

***tert.*-Butyl-(3-fluorophenylethyl)carbamat (*m*-27)**



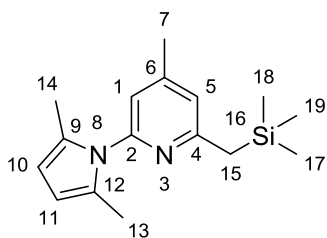
Ausbeute	234 mg, 0,98 mmol, 98 %
UV-Absorption ( $\lambda_{\text{max}}$ , nm)	210, 261.
$^1\text{H}$ -NMR (200,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,23-7,20 (m, 1H, H-5); 6,99-6,87 (m, 3H, H-2, 4, 6); 4,75 (b, 1H, H-9); 3,36 (t, $^3J = 6,9$ Hz, 2H, H-8); 2,79 (t, $^3J = 7,0$ Hz, 2H, H-7); 1,44 (s, 9H, H-12, 13, 14).
$^{13}\text{C}$ -NMR (50,33 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	162,5 (d, $^1J_{\text{CF}} = 246$ Hz, C-1); 155,9 (C-10); 141,6 (d, $^3J_{\text{CF}} = 7$ Hz, C-3); 129,9 (d, $^3J_{\text{CF}} = 8$ Hz, C-5); 124,4 (d, $^4J_{\text{CF}} = 3$ Hz, C-4); 115,6 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21$ Hz, C-2); 113,2 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21$ Hz, C-6); 79,3 (C-11); 41,8 (C-8); 36,0 (C-7); 28,4 (C-12, 13, 14).
$^{19}\text{F}$ -NMR (188,31 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	-113,4.
HR-MS (ESI, m/z)	262,1222 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (65,25), H (7,58), N (5,85). Gef.: C (65,24 $\pm$ 0,10), H (7,55 $\pm$ 0,01), N (5,78 $\pm$ 0,03).

**tert.-Butyl-(4-fluorphenylethyl)carbamat (p-27)**

Ausbeute	229 mg, 0,96 mmol, 96 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,16 (t, $^3J = 6,0$ Hz, 2H, H-3, 5); 7,01 (t, $^3J = 6,6$ Hz, 2H, H-2, 6); 4,60 (b, 1H, H-9); 3,36 (t, $^3J = 7,0$ Hz, 2H, H-8); 2,79 (t, $^3J = 7,0$ Hz, 2H, H-7); 1,46 (s, 9H, H-12, 13, 14).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,32 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	161,6 (d, $^1J_{\text{CF}} = 244$ Hz, C-1); 155,9 (C-10); 134,7 (d, $^4J_{\text{CF}} = 3$ Hz, C-4); 130,2 (d, $^3J_{\text{CF}} = 8$ Hz, C-3, 5); 115,3 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21$ Hz, C-2, 6); 113,2 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21$ Hz, C-6); 79,3 (C-11); 42,1 (C-8); 35,5 (C-7); 28,4 (C-12, 13, 14).
$^{19}\text{F-NMR}$ (188,31 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	-117,4.
HR-MS (ESI, m/z)	262,1215 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (65,25), H (7,58), N (5,85). Gef.: C (65,29 $\pm$ 0,19), H (7,65 $\pm$ 0,03), N (5,78 $\pm$ 0,02).

**2-(2,5-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-4-methyl-6-((trimethylsilyl)methyl)pyridin (28)**

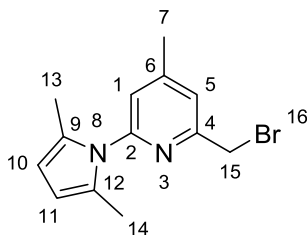
In eine Lösung aus 5 g 2-(2,5-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-4,6-dimethylpyridin (**9**) (25 mmol) in 83 mL THF wurden bei  $-78^\circ\text{C}$  17,5 mL (27,5 mmol; 1,6 M in n-Hexan) n-BuLi zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von 2 h bei  $0^\circ\text{C}$  wurden tropfenweise 3,5 mL (27,5 mmol) Trimethylsilylchlorid zu der dunkelroten Lösung gegeben. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch bei RT für eine weitere Stunde gerührt. Die hell gelbe Suspension wurde mit 90 mL Wasser versetzt und dreimal mit 60 mL Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde mit wässriger, gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde mit einem Laufmittelgemisch aus Petrolether 40-60 und Ethylacetat im Verhältnis 19:1 über Silikagel säulenchromatographisch ( $R_f = 0,9$ ) gereinigt. (aus 190)



Ausbeute	4,90 g, 0,18 mmol, 72 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,33 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	6,85 (s, 1H, H-1); 6,78 (s, 1H, H-5); 6,65 (s, 2H, H-10, 11); 2,42 (s, 2H, H-15); 2,40 (s, 3H, H-7); 2,13 (s, 6H, H-13, 14); 0,09 (s, 9H, H-17, 18, 19).
$^{13}\text{C-NMR}$ (100,62 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	161,5 (C-2); 151,4 (C-4); 149,0 (C-6); 128,5 (C-9, 12); 122,0 (C-5); 118,8 (C-1); 106,2 (C-10, 11); 29,9 (C-15); 21,0 (C-7); 13,1 (C-13, 14); -1,5 (C-17, 18, 19).

### 2-Brommethyl-6-(2,5-dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin (29)

In eine Lösung aus 2,00 g (7,3 mmol) 2-(2,5-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-4-methyl-6-((trimethylsilyl)methyl)pyridin (**28**) in 35 mL DMF wurden 3,79 g (14,6 mmol) 1,2-Dibromtetrafluorethan sowie 2,22 g (14,6 mmol) CsF zugegeben und anschließend bei Raumtemperatur 3 h gerührt. Das entstandene Rohprodukt wurde weitestgehend eingeeengt und aus Stabilitätsgründen zeitnah mit einem Laufmittelgemisch aus 5 % Ethylacetat in Petrolether 40-60 über Silikagel säulenchromatographisch ( $R_f = 0,38$ ) aufgereinigt und weiterverarbeitet. (aus 190)

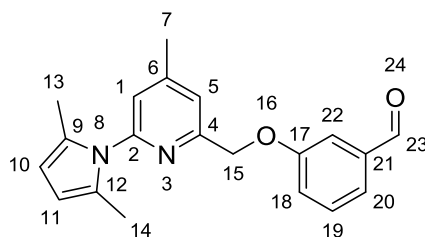


Ausbeute	1,72 g, 6,16 mmol, 85 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,33 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,31 (s, 1H, H-1); 7,01 (s, 1H, H-5); 5,94 (s, 2H, H-10, 11); 4,58 (s, 2H, H-15); 2,49 (s, 3H, H-7); 2,20 (s, 6H, H-13, 14).

$^{13}\text{C}$ -NMR (50,32 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	156,3 (C-2); 151,8 (C-4); 150,7 (C-6); 128,6 (C-9, 12); 122,9 (C-5); 121,8 (C-1); 107,1 (C-10, 11); 33,4 (C-15); 21,1 (C-7); 13,3 (C-13, 14).
--	---

### 3-((6-(2,5-Dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)methoxy)benzaldehyd (30)

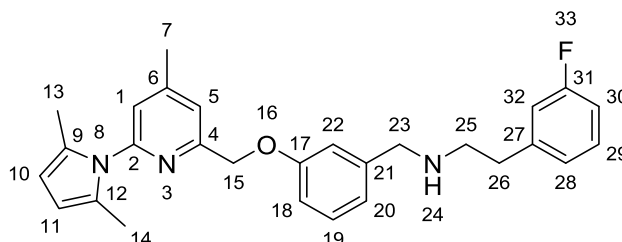
Eine Lösung aus 278 mg (1 mmol) frisch gereinigtem 2-Brommethyl-6-(2,5-dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin (**29**) und 481 mg (3,5 mmol)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  in 17 mL Aceton wurde für 4 h bei 60 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, bevor das Rohprodukt säulenchromatographisch über Silikagel mit einem Laufmittelgemisch aus 20 % Ethylacetat in Petrolether 40-60 ( $R_f = 0,6$ ) aufgereinigt wurde. Das Produkt wurde als gelblich viskoses Öl erhalten. (nach 190)



Ausbeute	208 mg, 0,65 mmol, 65 %.
$^1\text{H}$ -NMR (400,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	9,94 (s, 1H, H-23); 7,49-7,42 (m, 3H, H-19, 20, 22); 7,34 (s, 1H, H-1); 7,26 (m, 1H, H-18); 6,96 (s, 1H, H-5); 5,88 (s, 2H, H-10, 11); 5,22 (s, 2H, H-15); 2,42 (s, 3H, H-7); 2,11 (s, 6H, H-13, 14).
$^{13}\text{C}$ -NMR (100,62 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	191,9 (C-23); 158,9 (C-17); 156,3 (C-2); 151,6 (C-4); 150,5 (C-6); 137,9 (C-21); 130,2 (C-19); 128,5 (C-9, 12); 123,5 (C-20); 121,7 (C-5); 121,6 (C-18); 120,7 (C- 1); 114,1 (C-22); 107,0 (C-10, 11); 70,5 (C-15); 21,2 (C-7); 13,2 (C-13, 14).
MS (ESI, m/z)	321,08 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

***N*-(3-((6-(2,5-Dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)methoxy)benzyl)-2-(3-fluorophenylethyl)-anilin (31)**

Zu einer Lösung aus 320 mg (1 mmol) 3-((6-(2,5-Dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)methoxy)benzaldehyd (**30**) in 6 mL trockenem Methanol wurden 295 mg (1,4 mmol) NaBH(OAc)<sub>3</sub> vorgelegt und mit 139 mg (1 mmol) 3-Fluorphenylethylamin bei Raumtemperatur für 3 h gerührt. Nach Filtration der festen Rückstände und Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch über Silikagel mit einem Laufmittelgemisch aus 1 % Triethylamin und 9 % Petrolether 40-60 in Ethylacetat (*R<sub>f</sub>* = 0,8) aufgereinigt und als farblos viskoses Öl isoliert. (nach 190)



Ausbeute

395 mg, 0,89 mmol, 89 %

<sup>1</sup>H-NMR (200,13 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

7,47 (s, 1H, H-5); 7,36-7,28 (m, 2H, H-1, 29); 7,05-6,91 (m, 7H, H-18, 19, 20, 22, 28, 30, 32); 5,99 (s, 2H, H-10, 11); 5,27 (s, 2H, H-15); 3,86 (s, 2H, H-23); 2,93 (t, <sup>3</sup>*J* = 5,3 Hz, 2H, H-25); 2,91 (t, <sup>3</sup>*J* = 5,2 Hz, 2H, H-26); 2,50 (s, 3H, H-7); 2,23 (s, 6H, H-13, 14); 1,73 (b, 1H, H-24).

<sup>13</sup>C-NMR (50,32 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

163,0 (d, <sup>1</sup>*J*<sub>CF</sub> = 260,6 Hz, C-31); 158,6 (C-2); 157,2 (C-17); 151,5 (C-4); 150,4 (C-6); 142,7 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CF</sub> = 7,1 Hz, C-27); 142,0 (C-21); 129,9 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CF</sub> = 8,2 Hz, C-29); 129,6 (C-19); 128,5 (C-9, 12); 124,4 (d, <sup>4</sup>*J*<sub>CF</sub> = 2,8 Hz, C-28); 121,5 (C-18); 121,0 (C-5); 120,7 (C-20); 115,6 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CF</sub> = 21,0 Hz, C-32); 114,7 (C-1); 113,2 (C-22); 113,0 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CF</sub> = 21,0 Hz, C-30); 107,0 (C-10, 11); 70,3 (C-15); 53,7 (C-23); 50,2 (C-25); 36,1 (d, <sup>5</sup>*J*<sub>CF</sub> = 1,6 Hz, C-26); 21,3 (C-7); 13,3 (C-13, 14).

<sup>19</sup>F-NMR (188,31 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

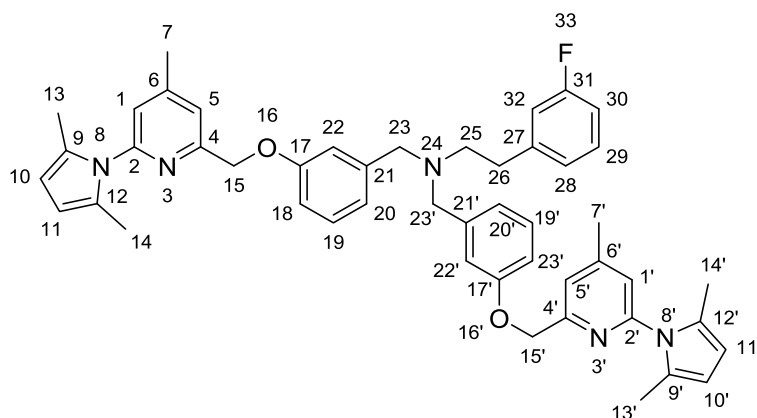
-113,3.

MS (ESI, *m/z*)

444,31 [M+H]<sup>+</sup>.



Als Nebenprodukt entstand bei dieser Reaktion folgende Verbindung:



Ausbeute 37 mg, 0,05 mmol, 5 %

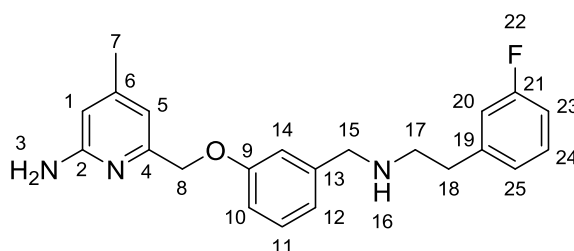
$^1\text{H-NMR}$  (200,13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 7,50 (s, 2H, H-5, 5'); 7,36-6,91 (m, 18H, H-1, 1', 18, 18', 19, 19', 20, 20', 22, 22', 28, 28', 29, 29', 30, 30', 32, 32'); 6,00 (s, 4H, H-10, 10', 11, 11'); 5,28 (s, 4H, H-15, 15'); 3,72 (s, 4H, H-23, 23'); 2,96-2,83 (m, 4H, H-25, 26); 2,50 (s, 6H, H-7, 7'); 2,25 (s, 12H, H-13, 13', 14, 14').

$^{19}\text{F-NMR}$  (188,31 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) -113,6.

MS (ESI, m/z) 748,43  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 6-((3-(((3-Fluorophenylethyl)amin)methyl)phenoxy)methyl)-4-methylpyridin-2-amin (32)

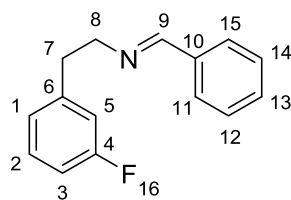
Zu einer Lösung aus 100 mg (0,2 mmol) *N*-(3-((6-(2,5-Dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)methoxy)benzyl)-2-(3-fluorophenylethyl)-anilin (**31**) in 3 mL Ethanol und 1,5 mL VE-Wasser wurden 153 mg (2,2 mmol) Hydroxylaminhydrochlorid gegeben und für 20 h bei 100 °C gerührt. Nach Abkühlen des Reaktionsgemisches auf Raumtemperatur wurden 8 mL 1M NaOH hinzugefügt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit 15 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit und säulenchromatographisch über Kieselgel-60 mit einem Laufmittelgemisch aus 1 % Triethylamin und 9 % Petrolether 40-60 in Ethylacetat ( $R_f = 0,5$ ) gereinigt. Nach 24 h unter Feinvakuum wurde das Produkt als blassgelber Feststoff erhalten. (aus 190)



Ausbeute	65 mg, 0,18 mmol, 89 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,39-7,22 (m, 2H, H-11, 24); 7,01-6,89 (m, 6H, H-10, 12, 14, 20, 23, 25); 6,72 (s, 1H, H-5); 6,28 (s, 1H, H-1); 4,99 (s, 2H, H-8); 4,36 (b, 2H, H-3); 3,83 (s, 2H, H-15); 2,90 (t, $^3J = 7,0$ Hz, 2H, H-17); 2,85 (t, $^3J = 7,0$ Hz, 2H, H-18); 2,25 (s, 3H, H-7).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,32 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	163,1 (d, $^1J_{\text{CF}} = 260,2$ Hz, C-21); 158,7 (C-2); 158,1 (C-4); 155,2 (C-9); 149,6 (C-6); 142,7 (d, $^3J_{\text{CF}} = 7,5$ Hz, C-19); 141,9 (C-13); 129,9 (d, $^3J_{\text{CF}} = 8,1$ Hz, C-24); 129,6 (C-11); 124,4 (C-25); 120,6 (C-12); 115,5 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21,0$ Hz, C-20); 114,6 (C-10); 113,2 (C-5); 113,1 (C-14); 112,9 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21,0$ Hz, C-23); 108,0 (C-1); 70,3 (C-8); 53,7 (C-15); 50,2 (C-17); 36,1 (C-18); 21,2 (C-7).
$^{19}\text{F-NMR}$ (188,31 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	-113,5 (s).
MS (ESI, m/z)	365,43 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### **N-(3-Fluorphenylethyl)-1-phenylmethanimin (33)**

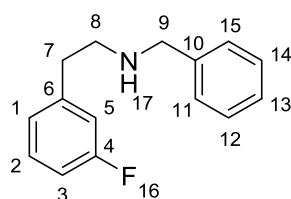
Zu einer Suspension aus 765 mg (5,5 mmol) 3-Fluorphenylethylamin (**26**) und  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  in 10 mL trockenem Dichlormethan wurden 531 mg (5 mmol) Benzaldehyd gegeben. Das Gemisch wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor die festen Bestandteile durch Filtration entfernt und das Filtrat vom Lösungsmittel befreit wurde. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch über Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch aus 9 % Triethylamin in 82 % Ethylacetat und 9 % Petrolether 40-60 ( $R_f = 0,9$ ) aufgereinigt und anschließend für 24 h im Feinvakuum von Laufmittelrückständen befreit. (nach 245)



Ausbeute	829 mg, 3,65 mmol, 73 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	8,22 (s, 1H, H-9); 7,78-7,74 (m, 2H, H-11, 15); 7,48-7,44 (m, 3H, H-12, 13, 14); 7,30-7,23 (m, 1H, H-2); 7,08-6,90 (m, 3H, H-1, 3, 5); 3,91 (t, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, H-8); 3,08 (t, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, H-7).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,32 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	162,9 (d, $^1J_{\text{CF}} = 245,3$ Hz, C-4); 161,7 (C-9); 142,6 (d, $^3J_{\text{CF}} = 7,3$ Hz, C-6); 136,5 (C-10); 130,7 (C-13); 129,8 (d, $^3J_{\text{CF}} = 3,0$ Hz, C-2); 128,6 (C-11, 15); 128,1 (C-12, 14); 124,7 (d, $^4J_{\text{CF}} = 2,8$ Hz, C-1); 115,8 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21,0$ Hz, C-5,); 113,0 (C-3, $^2J_{\text{CF}} = 21,0$ Hz); 62,7 (C-8); 37,2 (d, $^5J_{\text{CF}} = 1,7$ Hz, C-7).
$^{19}\text{F-NMR}$ (188,31 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	-113,68.
MS (ESI, m/z)	227,85 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### **N-Benzyl-2-(3-fluorophenyl)ethan-1-amin (34)**

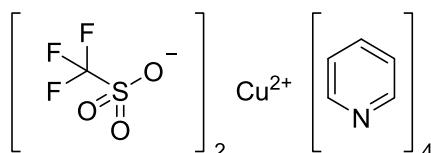
Eine Lösung aus 681 mg (3,0 mmol) *N*-(3-Fluorphenylethyl)-1-phenylmethanimin (**33**) in 8 mL Methanol wurde mit 114 mg (3,0 mmol) Natriumborhydrid behandelt und 1 h intensiv gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in 30 mL Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde dreimal mit 15 mL VE-Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch über Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch aus 9 % Triethylamin in 82 % Ethylacetat und 9 % Petrolether 40-60 ( $R_f = 0,8$ ) aufgereinigt und anschließend für 24 h im Feinvakuum von Laufmittelrückständen befreit. (nach 245)



Ausbeute	674 mg, 2,94 mmol, 98 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,45-7,27 (m, 6H, H-2, 11, 12, 13, 14, 15); 7,09-6,94 (m, 3H, H-1, 3, 5); 3,90 (s, 2H, H-9); 3,04-2,86 (m, 4H, H-7, 8); 1,50 (s, 1H, H-17).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,32 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	162,9 (d, $^1J_{\text{CF}} = 245,6$ Hz, C-4); 161,7 (C-9); 142,6 (d, $^3J_{\text{CF}} = 7,3$ Hz, C-6); 136,2 (C-10); 130,7 (C-13); 129,8 (d, $^3J_{\text{CF}} = 8,4$ Hz, C-2); 128,7 (C-11, 15); 128,1 (C-12, 14); 124,8 (d, $^4J_{\text{CF}} = 2,9$ Hz, C-1); 115,9 (d, $^2J_{\text{CF}} = 20,9$ Hz, C-5); 113,0 (d, $^2J_{\text{CF}} = 20,9$ Hz, C-3); 62,7 (C-8); 37,2 (d, $^5J_{\text{CF}} = 1,8$ Hz, C-7).
$^{19}\text{F-NMR}$ (188,31 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	-113,33.
HR-MS (ESI, m/z)	230,1351 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (78,57), H (7,03), N (6,11), Gef.: C (78,21 $\pm$ 0,09), H (7,06 $\pm$ 0,02), N (5,94 $\pm$ 0,04).

#### 4.4.6 Synthese des Kupferkomplexes Tetrakis(pyridin)bis(trifluormethansulfonat-O)kupfer(II)

In einem trockenen 100 mL Zweihalsrundkolben wurden unter Schutzgasbedingungen 2,982 g (8,24 mmol) Kupfer(II)triflat in 33 mL heißem Methanol gelöst und anschließend tropfenweise mit 15 mL Pyridin versetzt. Nach Abkühlen auf RT bildeten sich aus der tief blauen Lösung dunkelblaue Kristalle, welche durch Filtration isoliert wurden. Das Produkt wurde zweimal aus einem Lösungsmittelgemisch aus 20 % Pyridin in Methanol umkristallisiert und im Feinvakuum 24 h getrocknet. (aus 239)

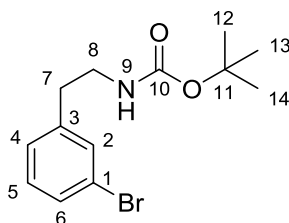


Ausbeute	1,88 g, 2,77 mmol, 33 %
EA (%)	Ber.: C (38,97), H (2,97), N (8,26). Gef.: C (39,02 $\pm$ 0,04), H (3,00 $\pm$ 0,04), N (8,24 $\pm$ 0,02).

#### 4.4.7 Synthese des Boronsäureestervorläufers 37

##### Synthese von *tert.*-Butyl-(3-bromphenylethyl)carbammat (36)

Zu 1,00 g (5 mmol) 3-Bromphenylethylamin (**35**) in 5 mL Methanol wurden 1,09 g (5 mmol) Di-*tert.*-butyldicarbonat gegeben und für 30 min bei 50 °C im Ultraschallbad behandelt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, bevor das Rohprodukt säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus 15 % Ethylacetat in Petrolether 40-60 aufgereinigt wurde ( $R_f = 0,6$ ). Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das reine Produkt als farblos viskoses Öl erhalten, welches bei 5 °C kristallisierte. (nach 233)

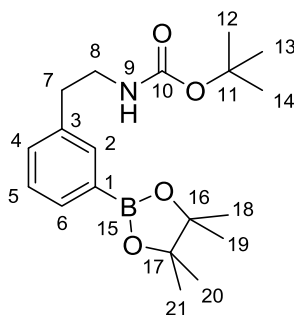


Ausbeute	1,48 g, 4,93 mmol, 98 %
$^1\text{H-NMR}$ (200,13 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,39-7,34 (m, 2H, H-2, 6); 7,19-7,14 (m, 2H, H-4, 5); 4,66 (b, 1H, H-9); 3,37 (t, $^3J = 7,0$ Hz, 2H, H-8); 2,78 (t, $^3J = 7,1$ Hz, 2H, H-7); 1,46 (s, 9H, H-12, 13, 14).
$^{13}\text{C-NMR}$ (50,33 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	155,9 (C-10); 141,4 (C-3); 131,9 (C-2); 130,1 (C-1); 129,5 (C-6); 127,5 (C-4); 122,6 (C-5); 79,4 (C-11); 41,8 (C-8); 36,0 (C-7); 28,4 (C-12, 13, 14).
HR-MS (ESI, m/z)	322,0437 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (52,01), H (6,04), N (4,67). Gef.: C (52,40 $\pm$ 0,03), H (6,06 $\pm$ 0,01), N (4,79 $\pm$ 0,02).

##### 3-*tert.*-Butoxycarbonylaminoethylphenyl-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxoboran (37)

In einem trockenen 50 mL Rundkolben wurden 785 mg (8,0 mmol) Kaliumacetat mit einem Heißluftfön am Feinvakuum getrocknet. Anschließend wurden 73 mg (0,1 mmol)  $[1,1'\text{-Bis(diphenylphosphino)ferrocen}]\text{dichloropalladium(II)}$ , 1,00 g (3,33 mmol) *tert.*-Butyl-(3-bromphenylethyl)carbammat (**36**), 1,27 g (5,0 mmol)

4,4,4',4',5,5,5',5'-Octamethyl-2,2'-bi-1,3,2-dioxaboroan und 18 mL DMF zugefügt. Nach 3 h Rühren bei 85 °C wurde das Reaktionsgemisch in Wasser aufgenommen und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit wässriger, gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und nach Filtration vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde in 50 mL Ethylacetat aufgenommen und in Gegenwart von Aktivkohle und Kieselgel-60 5 min im Ultraschallbad behandelt. Über einen mit Kieselgel-60 und Zellulose gefüllten Glasfilter wurde die behandelte Suspension filtriert. Der Filter wurde mit Ethylacetat gespült bevor die vereinigten organischen Phasen vom Lösungsmittel befreit wurden. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch über Kieselgel-60 mit 15 % Ethylacetat in Petrolether 40-60 (*R<sub>f</sub>* = 0,5) und einem geeigneten Gradientenverfahren mit steigendem Ethylacetatgehalt gereinigt. Nach Trocknen am Feinvakuum wurde ein farblos viskoses Öl erhalten, das schnell kristallisierte. (nach 52 und 237)

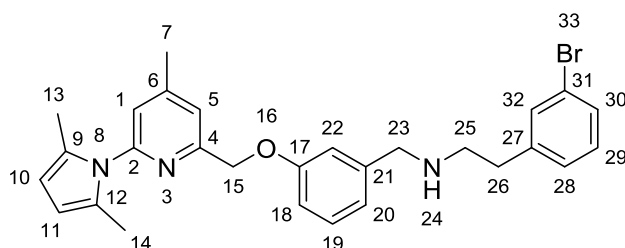


Ausbeute	983 mg, 2,83 mmol, 85 %
<sup>1</sup> H-NMR (200,13 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	7,73-7,68 (m, 2H, H-5, 6); 7,36-7,30 (m, 2H, H-2, 4); 4,59 (b, 1H, H-9); 3,41 (t, <sup>3</sup> J = 7,0 Hz, 2H, H-8); 2,84 (t, <sup>3</sup> J = 7,1 Hz, 2H, H-7); 1,47 (s, 9H, H-12, 13, 14); 1,38 (s, 12H, H-18, 19, 20, 21).
<sup>13</sup> C-NMR (50,33 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	155,9 (C-10); 138,2 (C-3); 135,2 (C-2); 132,9 (C-1); 131,8 (C-5, 6); 128,0 (C-4); 83,8 (C-16, 17); 79,2 (C-11); 42,0 (C-8); 36,1 (C-7); 28,4 (C-12, 13, 14); 24,9 (C-18, 19, 20, 21).
<sup>11</sup> B-NMR ( 192,56 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	33,03.
HR-MS (ESI, m/z)	370,2167 [M+Na] <sup>+</sup> .
EA (%)	Ber.: C (65,72), H (8,71), N (4,03). Gef.: C (66,16 ± 0,88), H (8,81 ± 0,12), N (4,13 ± 0,03).

#### 4.4.8 Synthese des nNOS-Inhibitors **32** über eine Kupfer-vermittelte Direktmarkierung

##### *N*-(3-((6-(2,5-Dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)methoxy)benzyl)-2-(3-bromophenylethyl)anilin (**38**)

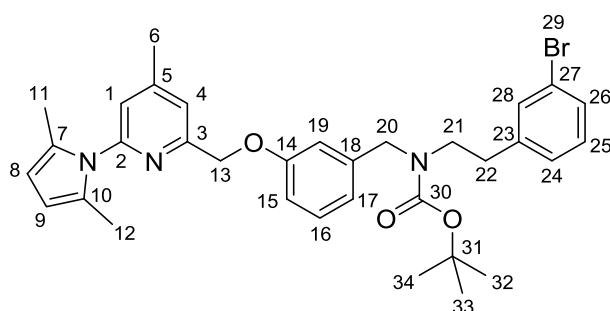
Zu einer Lösung aus 1,050 g (3,28 mmol) 3-((6-(2,5-Dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)methoxy)benzaldehyd (**30**) in 18 mL trockenem Methanol wurden 972 mg (4,59 mmol) NaBH(OAc)<sub>3</sub> vorgelegt und mit 656 mg (3,28 mmol) 3-Bromphenylethylamin bei Raumtemperatur für 3 h gerührt. Nach Filtration der festen Rückstände und Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch über Silikagel mit einem Laufmittelgemisch aus 1 % Triethylamin und 9 % Petrolether 40-60 in Ethylacetat ( $R_f = 0,7$ ) aufgereinigt. (nach 190)



Ausbeute	1,44 g, 2,85 mmol, 87 %
<sup>1</sup> H-NMR (200,13 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	7,46 (s, 1H, H-5); 7,42-7,18 (m, 5H, H-1, 19, 29, 30, 32); 7,05-6,93 (m, 4H, H-18, 20, 22, 28); 5,97 (s, 2H, H-10, 11); 5,25 (s, 2H, H-15); 3,85 (s, 2H, H-23); 2,94 (t, <sup>3</sup> J = 5,5 Hz, 2H, H-25); 2,89 (t, <sup>3</sup> J = 5,6 Hz, 2H, H-26); 2,49 (s, 3H, H-7); 2,20 (s, 6H, H-13,14); 1,93 (b, 1H, H-24).
<sup>13</sup> C-NMR (50,32 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	158,6 (C-2); 157,2 (C-17); 151,5 (C-4); 150,4 (C-6); 142,4 (C-27); 141,9 (C-21); 131,8 (C-31); 130,1 (C-31); 129,6 (C-19); 129,4 (C-30); 128,5 (C-9, 12); 127,5 (C-28); 122,6 (C-29); 121,5 (C-18); 121,0 (C-5); 120,7 (C-1); 114,7 (C-20); 113,3 (C-22); 107,0 (C-10, 11); 70,3 (C-15); 53,7 (C-23); 50,2 (C-25); 36,0 (C-26); 21,3 (C-7); 13,3 (C-13, 14).
HR-MS (ESI, m/z)	504,1641 [M+H] <sup>+</sup> .

***tert.*-Butyl(3-((6-(2,5-dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)methoxy)benzyl)(3-bromophenylethyl)carbamat (39)**

Zu einer Lösung aus 240 mg (0,48 mmol) *N*-(3-((6-(2,5-Dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)methoxy)benzyl)-2-(3-bromophenylethyl)anilin (**38**) in 6 mL Methanol wurden 114 mg (0,52 mmol) Di-*tert.*-butyldicarbonat gegeben. Die Mischung wird für 30 min bei Raumtemperatur im Ultraschallbad behandelt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das gelbliche Rohprodukt säulenchromatographisch über Silikagel mit einem Laufmittelgemisch aus 20 % Ethylacetat in Petrolether 40-60 ( $R_f = 0,7$ ) aufgereinigt. (nach 233)



Ausbeute 241 mg, 0,40 mmol, 83 %.

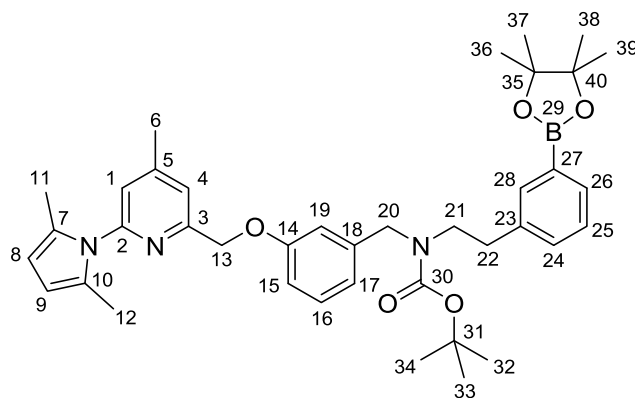
HR-MS (ESI,  $m/z$ ) 626,1989  $[M+Na]^+$ .

***tert.*-Butyl(3-((6-(2,5-dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)methoxy)benzyl)(3-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxoboran-2-yl)phenylethyl)carbamate (40)**

In einem trockenen 50 mL Rundkolben wurden 311 mg (3,2 mmol) Kaliumacetat mit einem Heißluftfön am Feinvakuum getrocknet. Anschließend wurden 9 mg (0,01 mmol) [1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen]dichloropalladium(II), 240 mg (0,4 mmol) *tert.*-Butyl(3-((6-(2,5-dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)methoxy)benzyl)(3-bromophenylethyl)carbamate (**39**), 151 mg (0,6 mmol) 4,4,4',4',5,5,5',5'-Octamethyl-2,2'-bi-1,3,2-dioxoborane und 7,2 mL DMF zugefügt. Nach 3 h Rühren bei 85 °C wurde das Reaktionsgemisch in VE-Wasser aufgenommen und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit wässriger, gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und nach Filtration vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde in 50 mL Ethylacetat aufgenommen und in Gegenwart von Aktivkohle und Kieselgel-60 5 min im Ultraschallbad behandelt. Über einen mit Kieselgel-60 und Zellulose gefüllten Glasfilter wurde die behandelte Suspension filtriert. Der Filter wurde mit Ethylacetat gespült bevor die



vereinigten organischen Phasen vom Lösungsmittel befreit wurden. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch über Kieselgel-60 mit Petrolether 40-60 und Ethylacetat und einem geeigneten Gradientenverfahren gereinigt. Nach Trocknen am Feinvakuum wurde ein farbloses und sehr viskoses Öl erhalten. (nach 52 und 237)



Ausbeute

85 mg, 0,13 mmol, 33 %

$^1\text{H-NMR}$  (600,15 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

7,69-7,63 (m, 2H, H-25, 26); 7,40 (s, 1H, H-4); 7,31-7,24 (m, 3H, H-16, 24, 28); 6,98 (s, 1H, H-1); 6,92-6,88 (m, 3H, H-15, 17, 19); 5,92 (s, 2H, H-8, 9); 5,20 (s, 2H, H-13); 4,43 (s, 1H, H-20); 4,33 (s, 1H, H-20); 3,46 (t,  $^3J = 6,0$  Hz, 1H, H-21); 3,41 (t,  $^3J = 6,0$  Hz, 1H, H-21); 2,86 (t,  $^3J = 6,0$  Hz, 1H, H-22); 2,81 (t,  $^3J = 6,0$  Hz, 1H, H-22); 2,46 (s, 3H, H-6); 2,20 (s, 6H, H-11, 12); 1,49 (s, 9H, H-32, 33, 34); 1,37 (s, 12H, H-36, 37, 38, 39).

$^{13}\text{C-NMR}$  (150,92 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

158,5 (C-2); 157,2 (C-14); 155,9 (C-30); 151,4 (C-3); 150,4 (C-5); 140,6 (C-18); 140,2 (C-18); 138,4 (C-23); 135,1 (C-28); 132,7 (C-27); 131,8 (C-26); 129,6 (C-16); 128,4 (C-7, 10); 127,9 (C-25); 121,4 (C-4); 120,6 (C-1); 120,4 (C-15); 114,2 (C-17); 113,9 (C-17); 113,1 (C-19); 112,9 (C-19); 106,9 (C-8, 9); 83,7 (C-35, 40); 79,7 (C-31); 70,1 (C-13); 51,0 (C-20); 49,9 (C-20); 48,9 (C-21); 48,4 (C-21); 34,7 (C-22); 34,3 (C-22); 28,4 (C-32, 33, 34); 24,8 (C-36, 37, 38, 39); 21,2 (C-6); 13,2 (C-11, 12).

HR-MS (ESI, m/z)

652,3917  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### 4.4.9 Mikrowellengestützte Entfernung der Boc- und der Pyrrol-Schutzgruppe am Beispiel der Referenzverbindung **41**

Zur qualitativen Untersuchung der Entschützung wurden jeweils 5 mg der Boc- und Pyrrol-geschützten Verbindung **41** in ein Mikrowellengefäß mit Teflonrührkern vorgelegt. Nach Zugabe des Entschützensreagenzes wird das Reaktionsgemisch für eine definierte Zeit in der Mikrowelle bestrahlt. Die Reaktionsparameter sind in Tabelle 11 aufgeführt. Zur Beurteilung des Syntheseergebnisses wurde das Reaktionsgemisch mit einer wässrigen 4 M NaOH-Lösung alkalisiert und mittels HPLC (System 1, Methode 17) untersucht. Als Entschützensreagenz diente (A) eine Lösung aus 345 mg  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  in einem Lösungsmittelgemisch aus 1 mL Ethanol und 0,5 mL VE-Wasser oder (B) eine Mischung aus 150  $\mu\text{L}$  konzentrierter Salzsäure und 1350  $\mu\text{L}$  Ethanol.

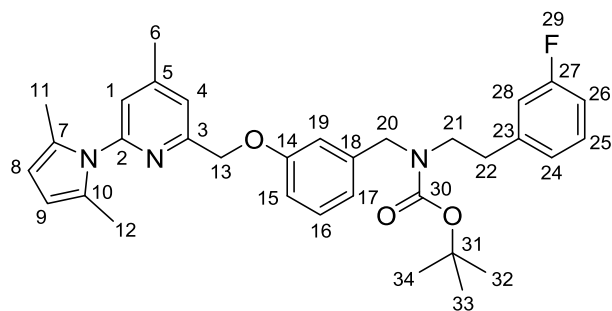
Tabelle 11: Liste der getesteten Reaktionsbedingungen für die Entschützung von **41**.

Nr.	Reagenz	Leistung [W]	Temperatur [°C]	Zeit [min]
1	A	50	90	5
2	A	50	100	5
3	A	50	90	10
4	A	50	100	10
5	A	Ölbad!	100	20
6	B	100	125	2
7	B	100	125	2
8	B	50	90	5
9	B	50	90	5
10	B	50	90	10
11	B	50	90	10
12	B	50	90	20
13	B	50	90	30

#### **tert.-Butyl(3-((6-(2,5-dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)methoxy)benzyl)(3-fluorphenylethyl)carbamate (**41**)**

Zu einer Lösung aus 110 mg (0,25 mmol) *N*-(3-((6-(2,5-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-4-methylpyridin-2-yl)methoxy)benzyl)-2-(3-fluorphenylethyl)aniline (**31**) in 2 mL Methanol wurden 59 mg (0,27 mmol) Di-*tert.*-butyldicarbonat gegeben. Die Mischung

wurde für 15 min bei Raumtemperatur im Ultraschallbad gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das gelbliche Rohprodukt säulenchromatographisch über Silikagel mit einem Laufmittelgemisch aus 20 % Ethylacetat in Petrolether 40-60 ( $R_f = 0,7$ ) aufgereinigt. (nach 233)



Ausbeute	241 mg, 0,40 mmol, 83 %.
$^1\text{H-NMR}$ (600,15 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	7,26 (s, 1H, H-4); 7,13-7,08 (m, 2H, H-16, 25); 6,84 (s, 1H, H-1); 6,78-6,70 (m, 6H, H-15, 17, 19, 24, 26, 28); 5,78 (s, 2H, H-8, 9); 5,05 (s, 2H, H-13); 4,27 (s, 2H, H-20); 3,36-3,24 (m, 2H, H-21); 2,70-2,62 (m, 2H, H-22); 2,31 (s, 3H, H-6); 2,01 (s, 6H, H-11, 12); 1,36 (s, 9H, H-32, 33, 34).
$^{13}\text{C-NMR}$ (150,92 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	162,8 (d, $^1J_{\text{CF}} = 245,6$ Hz, C-27); 158,6 (C-2); 156,9 (C-14); 154,9 (C-30); 151,4 (C-3); 150,4 (C-5); 146,7 (C-18); 141,8 (C-17); 140,1 (d, $^3J_{\text{CF}} = 7,0$ Hz, C-23); 129,8 (C-25); 129,7 (C-16); 128,4 (C-7, 10); 124,5 (d, $^4J_{\text{CF}} = 2,8$ Hz, C-24); 121,5 (C-4); 120,6 (C-1); 119,9 (C-15); 115,7 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21,0$ Hz, C-28); 114,2 (C-19); 113,1 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21,0$ Hz, C-26); 106,9 (C-8, 9); 85,1 (C-31); 70,2 (C-13); 51,1 (C-20); 48,4 (C-21); 34,6 (C-22); 28,4 (C-32, 33, 34); 21,2 (C-6); 13,1 (C-11, 12).
$^{19}\text{F-NMR}$ (188,31 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	-113,5 (F-29).
HR-MS (ESI, m/z)	544,2970 $[\text{M}+\text{H}]^+$ .
EA (%)	Ber.: C (72,40), H (7,04), N (7,73). Gef.: C (72,66 $\pm$ 0,08), H (7,18 $\pm$ 0,03), N (7,73 $\pm$ 0,07).

## 4.5 Radiosynthesen

### 4.5.1 Produktion von n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid

Das für alle Radiosynthesen verwendete n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid wurde am JWS Babyzyklotron BC 1710 des Instituts für Neurowissenschaften und Medizin, INM-5: Nuklearchemie des Forschungszentrum Jülich durch Bestrahlung von  $^{18}\text{O}$ -angereichertem Wasser mit 16,5 MeV Protonen über die  $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$  Kernreaktion hergestellt.<sup>246</sup> Das auf diese Weise gewonnene n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid wurde entweder mit Sterilwasser der Firma *B. Braun Melsungen AG* (Melsungen, Deutschland) verdünnt, oder in einer elektrochemischen Zelle aufgereinigt und in wässriger Lösung für die Markierungsreaktionen bereitgestellt.<sup>27</sup>

### 4.5.2 Azeotrope Trocknung

**Methode A) im Wheaton V-Vial®:** In einem 5 mL Wheaton V-Vial® mit Teflonrührkern und Silikonseptum wurden zur Trocknung des n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids jeweils 10 mg (0,027 mmol) Kryptofix® 2.2.2. und 14  $\mu\text{L}$  (0,019 mmol) einer 1 M  $\text{K}_2\text{CO}_3$ -Lösung gelöst in 1 mL trockenem Acetonitril (Fa. *Merck KGaA*, Acetonitrile for DNA Synthesis,  $\leq 10$  ppm  $\text{H}_2\text{O}$ ) vorgelegt. Anschließend wurden einige  $\mu\text{L}$  der wässrigen n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid-Lösung entsprechend einer Aktivität von 20-100 MBq hinzugefügt. Bevor das Reaktionsgemisch im Argongegenstrom bei einem Druck von etwa 700 mbar und einer Temperatur von 80 °C azeotrop destilliert wurde, erfolgte die Quantifizierung der Startaktivität am Curiemeter. Nach einer Trocknungsperiode von ca. 6 min wurde 1 mL Acetonitril zugegeben und eine weitere Trocknungsperiode angeschlossen. Abhängig von der Aktivitätskonzentration der wässrigen [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid-Stammlösung wurde dieser Vorgang ein- bis dreimal wiederholt. Anschließend wurde die Argonzufuhr gesperrt und für 6 min ein Druck von 6-12 mbar angelegt. Nach erneuter Flutung des Reaktionsgefäßes mit Argon wurde die Aktivität am Curiemeter nochmals bestimmt.<sup>23</sup>

**Methode B) im Sigradur®-Druckreaktor:** In einem 5 mL Sigradur®-Gefäß<sup>247</sup> mit Teflonrührkern wurden die ausgewählten Mengen an Basensystem in 1 mL trockenem Acetonitril gelöst. Das Gefäß wurde mit einer Dichtscheibe aus BK/PTFE, einem Schraubdeckel und einer Klammer entsprechend der Abbildung 56 verschlossen. Anschließend wurden einige  $\mu\text{L}$  der wässrigen n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid-Lösung entsprechend einer Aktivität von 20 – 100 MBq zugegeben. Nach

Bestimmung der Startaktivität folgte die azeotrope Trocknung bei 80 °C und 700 mbar im Argongegenstrom. Nach einer ersten Trocknungsperiode von 6 min wurde 1 mL Acetonitril zugegeben und eine weitere Trocknungsperiode angeschlossen. Abhängig von der Aktivitätskonzentration der wässrigen [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid-Stammlösung wurde dieser Vorgang ein- bis dreimal wiederholt. Anschließend wurde die Argonzufuhr gesperrt und für 10 min ein Druck von 6-12 mbar angelegt. Nach der Flutung des Reaktionsgefäßes mit Argon wurde die Aktivität am Curiemeter erneut bestimmt.

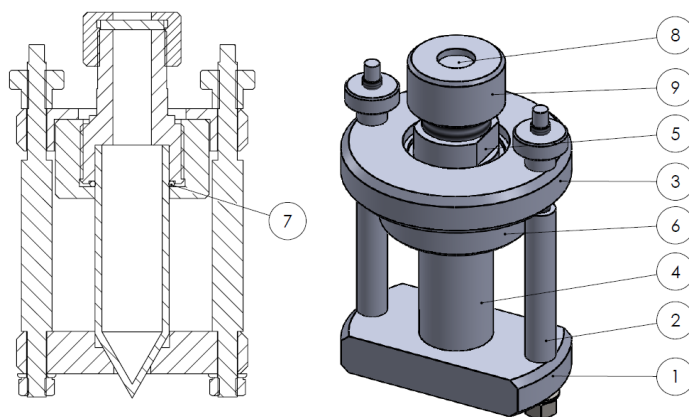


Abbildung 56: Schnitt und Ansicht des Sigradur®-Druckgefäßes mit Klammer. 1: untere Klammerplatte, 2: Verbindungsstück, 3: obere Klammerplatte, 4: Reaktionsgefäß, 5: Verschlussschrauben, 6: Gefäßhalterung, 7: Dichtungsring, 8: Dichtungsscheibe, 9: Schraubendeckel (aus 247).

#### 4.5.3 Radiosynthese von 5- $^{18}\text{F}$ Fluorlysin

In 0,5 mL des Lösungsmittels *tert.*-Butanol / Acetonitril im Verhältnis 9 : 1 wurden 10 mg (20  $\mu\text{mol}$ ) des Markierungsvorläufers **7** gelöst und in das nach Methode A vorbereitete Reaktionsgefäß mit Anionenaktivatorsystem und elektrochemisch aufgereinigtem sowie getrocknetem n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid überführt. Nach Erhitzen des Reaktionsgemisches in einem Ölbad für 10 min bei 95 °C wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck bei 700 mbar im Argongegenstrom für 5 min weitestgehend entfernt. Nach Zugabe von 1 mL 30 %-iger Trifluoressigsäure in Dichlorethan wurde das Reaktionsgemisch für 2 min bei RT gerührt und anschließend 7 min im Ölbad auf 70 °C erhitzt. Bei gleicher Temperatur wurde das Lösungsmittel im Argongegenstrom für 5 min entfernt. Nach Aufnahme der Reaktionslösung in 0,3 mL Wasser und Neutralisation mit einer gesättigten LiOH-

Lösung auf pH 9 erfolgten die Derivatisierungsversuche zu (5*RS*)-5-[<sup>18</sup>F]Fluor-*N*6-iminoethyl-DL-lysin (s.u.).

Zur Quantifizierung mittels RP-HPLC wurde das mit Wasser angelöste Produkt nach Zugabe von 5 mL Dichlormethan und Diethylether (v/v 1:1) über eine 200 mg Kieselgel-LiChrolut®-Kartusche geleitet. Das dort fixierte Produkt wurde mit 1 mL einer wässrigen 0,6 M Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>-Lösung von der Kartusche eluiert und mit Phosphorsäure auf pH 6,5 bis 7,5 titriert.

In weiteren Optimierungsversuchen wurden zur Steigerung der radiochemischen Ausbeute folgende Parameter variiert:

- A) Reaktionszeit: 2, 5, 10, 15, 20, 40 min bei 95 °C
- B) Reaktionstemperatur: 85 °C, 95 °C, 110 °C für jeweils 10 min
- C) Aktivatorsystem: 10 mg Kryptofix® 2.2.2, 14 µL 1M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (aq.); 10 µmol TBAHCO<sub>3</sub>
- D) Lösungsmittel: *tert.*-Butanol/Acetonitril (v/v 9:1); DMF

#### 4.5.4 Radiosyntheseveruche zur Darstellung des lysinbasierten iNOS-Inhibitors [<sup>18</sup>F]6

Basierend auf dem Prozess zur Darstellung des 5-[<sup>18</sup>F]Fluorlysin werden zur Synthese des 5(*R,S*)-[<sup>18</sup>F]Fluor-*N*6-iminoethyl-D,L-lysin 1,24 mg (0,01 mmol) CuCO<sub>3</sub> in die basische Produktlösung gegeben. Nach kurzem Rühren wurden 25 mg (0,2 mmol) Ethylacetimidathydrochlorid gelöst in 0,2 mL H<sub>2</sub>O hinzugefügt. Nach einer definierten Reaktionszeit wurde ein Aliquot für die Quantifizierung durch RP-HPLC oder DC entnommen.

Für die Versuche der terminalen Derivatisierung zu 5(*R,S*)-[<sup>18</sup>F]Fluor-*N*6-iminoethyl-D,L-lysin wurden folgende Parameter variiert:

- A) Reaktionszeit: 5, 15, 20, 30, 40 min bei RT
- B) Reaktionstemperatur: 70 °C für 5 und 40 min
- C) Cu-Gehalt: 2,5 mg u. 6 mg CuCO<sub>3</sub> bzw. 50 µL 10mM CuSO<sub>4</sub>-Lsg.

#### 4.5.5 Radiosynthese des Aminopyridin-basierten iNOS-Inhibitors [ $^{18}\text{F}$ ]18

##### *Variante 1: Radiosynthese im Zweitopfverfahren*

Die azeotrope Trocknung wurde nach Methode B (vgl. Kapitel 4.5.2) durchgeführt. Anschließend wurden 10 mg (30  $\mu\text{mol}$ ) des Markierungsvorläufers **15** in 1 mL des gewünschten Lösungsmittels gelöst und in das Reaktionsgefäß mit getrocknetem [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid und Anionenaktivatorsystem überführt. Nach Erhitzen des Reaktionsgemisches im Ölbad für 10 min bei der gewünschten Temperatur wurde das Reaktionsgefäß im Eisbad abgekühlt. Mithilfe einer Spritze wurde das gesamte Reaktionsgemisch über eine kurze Säule mit Kieselgel (90 mm x 100 mm) filtriert und in ein neues Reaktionsgefäß überführt. Das entleerte Reaktionsgefäß und die Kieselgelsäule wurden zweimal mit 1 mL Acetonitril gespült. Die vereinten organischen Fraktionen wurden in Gegenwart von 100  $\mu\text{L}$  1 M HCl bei 800 mbar und 110 °C im Argongegenstrom auf 0,5 mL eingengt. Anschließend wurden weitere 0,5 mL 1 M HCl zugegeben und für 10 min bei 110 °C gerührt, im Eisbad abgekühlt und mit 2 mL Wasser versetzt. Die Quantifizierung des Produktspektrums erfolgte mittels RP-HPLC.

Bei dieser Variante wurden das Lösungsmittel und die Reaktionstemperatur variiert. Als Lösungsmittel dienten Acetonitril oder ein Gemisch aus *tert.*-Butanol und Acetonitril im Verhältnis 9:1. Die Untersuchungen erfolgten bei den Temperaturen 80 °C, 90 °C, 100 °C und 110 °C.

##### *Variante 2: Radiosynthese im Eintopfverfahren*

Im Ultraschallbad wurden 10 mg (30  $\mu\text{mol}$ ) des Markierungsvorläufers **15** in 0,1 mL Acetonitril und 0,9 mL *tert.*-BuOH in Lösung gebracht. Die azeotrope Trocknung wurde nach Methode B (vgl. Kapitel 4.5.2) durchgeführt, bevor die Vorläuferlösung mit 10  $\mu\text{mol}$  getrocknetem TBAHCO<sub>3</sub> und n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid überführt wurde. Das Reaktionsgemisch wurde für 60 min im Ölbad bei 150 °C erhitzt. Anschließend wurde das Gemisch in Gegenwart von 100  $\mu\text{L}$  1 M HCl im Argonstrom bei 800 mbar und 150 °C für 3 min eingengt. Die Reaktionsmischung wurde nach Zugabe von weiteren 0,5 mL 1 M HCl für 10 min gerührt, im Eisbad abgekühlt und schließlich die Produkte mittels RP-HPLC quantifiziert.

### Versuche zur konkurrierenden Eliminierung

Zu Überprüfung der Stabilität wurden der Vorläufer **15** und das fluoriierte Zwischenprodukt **16** jeweils 10 min bei 60 °C und bei 110 °C sowohl in Abwesenheit wie auch in Anwesenheit von je 30 mol-% Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat bzw. Kaliumcarbonat erhitzt. Anschließend wurde das Produktspektrum mittels HPLC untersucht. In der folgenden Tabelle 12 sind die jeweiligen Einzelversuche zu den durchgeführten Tests an **15** aufgelistet.

Tabelle 12: Übersicht über die durchgeführten Stabilitätstests an **15**.

<b>15 [mg/mL]</b>	<b>Lösungsmittel</b>	<b>T [°C]</b>	<b>Base [10 µmol]</b>
2,0	<i>t</i> BuOH/CH <sub>3</sub> CN (9:1)	60	/
1,9	<i>t</i> BuOH/CH <sub>3</sub> CN (9:1)	110	/
2,3	CH <sub>3</sub> CN	60	/
1,7	CH <sub>3</sub> CN	110	/
1,5	<i>t</i> BuOH/CH <sub>3</sub> CN (9:1)	60	TBAHCO <sub>3</sub>
1,6	<i>t</i> BuOH/CH <sub>3</sub> CN (9:1)	110	TBAHCO <sub>3</sub>
1,4	CH <sub>3</sub> CN	60	TBAHCO <sub>3</sub>
2,7	CH <sub>3</sub> CN	110	TBAHCO <sub>3</sub>
1,5	<i>t</i> BuOH/CH <sub>3</sub> CN (9:1)	60	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
1,6	<i>t</i> BuOH/CH <sub>3</sub> CN (9:1)	110	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
1,4	CH <sub>3</sub> CN	60	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
1,5	CH <sub>3</sub> CN	110	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>

### Versuche zur Optimierung der Radiofluorierungsausbeute

Zur Bestimmung der optimalen Reaktionsbedingungen wurden die Zeitabhängigkeiten der Radiofluorierungsausbeuten untersucht. Dabei wurde das n.c.a. [<sup>18</sup>F]Fluorid zunächst entsprechend der Methode B aus Kapitel 4.5.2 in Gegenwart des gewünschten Anionenaktivatorsystems azeotrop getrocknet. Als Anionenaktivatorsystem wurden 10 µmol Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat oder 5-20 µmol Kaliumcarbonat / 5-15 mg Kryptofix® 2.2.2 verwendet. Anschließend wurde der Markierungsvorläufer **15** im gewünschten Lösungsmittel aufgenommen und in das Reaktionsgefäß mit dem getrockneten Aktivatorsystem und n.c.a. [<sup>18</sup>F]Fluorid



überführt. Als Lösungsmittel dienten Acetonitril, Dimethylsulfoxid oder ein Gemisch aus *tert.*-Butanol und Acetonitril im Verhältnis 9:1. Die Vorläuferkonzentration betrug jeweils 10 mg/mL (30  $\mu$ M). Danach wurde die Reaktionsmischung im Ölbad auf eine Temperatur von 110 °C, 130 °C oder 150 °C erhitzt. Zur Untersuchung des Produktspektrums wurden nach definierten Zeitabschnitten Aliquots des Reaktionsgemisches entnommen, in 1 mL HPLC-Laufmittel gelöst und mittels HPLC auf ihre Zusammensetzung untersucht.

### **Bestimmung der molaren Aktivität von [ $^{18}\text{F}$ ]18**

Zur Bestimmung der molaren Aktivität von [ $^{18}\text{F}$ ]18 mittels HPLC wurde die gemessene UV-Absorption des Analyten mithilfe einer Verdünnungskurve in Proportionalität zur Stoffmenge gesetzt (vgl. Abbildung 57).

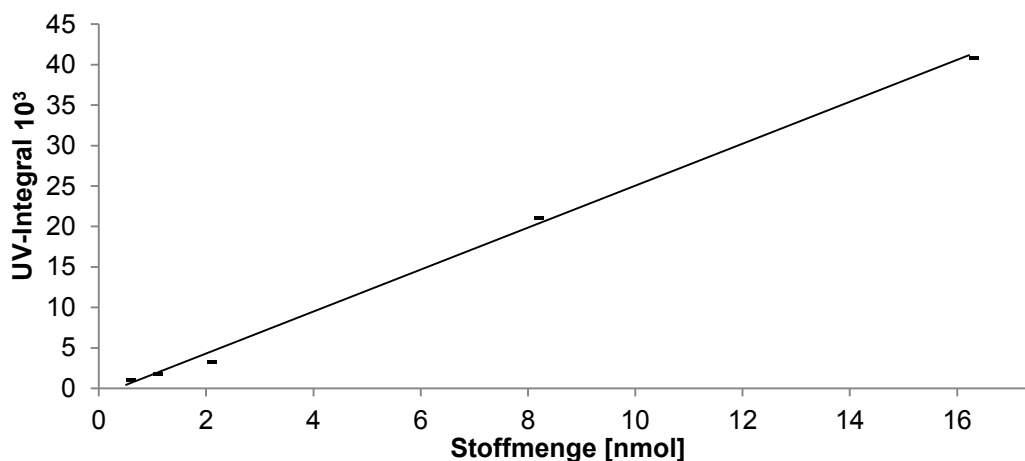


Abbildung 57: Abhängigkeit der UV-Absorption von der Stoffmenge von **18** bei einer Wellenlänge von 272 nm (HPLC-Messung, System 1, Methode 10).

Da bei den Messungen an n.c.a. 4-(2-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorpropyl)-2-aminopyridin im UV-Kanal nach der vorher bestimmten Retentionszeit keine korrespondierenden Signale zu beobachten waren, wurde aus dem Grenzwert der Kalibriergerade eine Untergrenze der molaren Aktivität von  $\geq 48$  GBq/ $\mu$ mol berechnet.

#### **4.5.6 Radiosynthese von 2-, 3- und 4-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluoranisol ([ $^{18}\text{F}$ ]42)**

Nach der Trocknung und Aktivierung des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids (ca. 30 MBq) nach Methode A (vgl. Kapitel 4.6.2) mit 10 mg (0,027 mmol) Kryptofix® 2.2.2 und 14  $\mu$ L (0,014 mmol) einer wässrigen 1 M  $\text{K}_2\text{CO}_3$ -Lösung wurde eine Lösung aus 9 mg (0,025 mmol) des Markierungsvorläufers in 1 mL Acetonitril in das Reaktionsgefäß überführt. Nach 10 min Rühren bei 110 °C im Ölbad wird die Aktivität der Produktlösung bestimmt,

bevor ein Aliquot von etwa 0,3 MBq in 300 µL HPLC-Laufmittel zur radiochromatographischen Untersuchung entnommen wurde (HPLC-System 1, Methode 2, vgl. Kapitel 4.1.4).

#### 4.5.7 Radiosynthese von *tert.*-Butyl-([<sup>18</sup>F]fluorphenylethyl)carbamat ([<sup>18</sup>F]27)

Nach der Trocknung und Aktivierung des [<sup>18</sup>F]Fluorids (ca. 30 MBq) nach Methode A (vgl. Kapitel 4.5.2) mit 10 mg (0,027 mmol) Kryptofix<sup>®</sup> 2.2.2 und 14 µL (0,014 mmol) einer wässrigen 1 M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung wurde eine Lösung aus 12 mg (0,025 mmol) des Markierungsvorläufers **24** in 1 mL DMF in das Reaktionsgefäß überführt. Nach 10 min Rühren bei 110 °C im Ölbad wurde die Aktivität der Produktlösung bestimmt, bevor ein Aliquot von etwa 0,3 MBq in 300 µL HPLC-Laufmittel zur radiochromatographischen Untersuchung entnommen wurde (HPLC-System 1, Methode 12).

Zur Untersuchung der Regioselektivität dieser Radiofluorierung wurde das entstandene Produkt testweise entschützt und mittels spezieller Gradientenverfahren chromatographisch analysiert. Dazu wurde das Reaktionsgemisch zusammen mit 0,1 mL einer wässrigen 1 M HCl-Lösung für 10 min bei 90 °C gerührt. Nach Abkühlung des Reaktionsgefäßes im Eisbad wurde die Produktlösung mit 1 M NaOH-Lösung auf pH 9 titriert bevor ein Aliquot von etwa 0,3 MBq in 300 µL HPLC-Laufmittel zur radiochromatographischen Untersuchung entnommen wurde (HPLC-System 1, Methode 12 oder 13).

#### 4.5.8 Radiosynthese des nNOS-Inhibitors [<sup>18</sup>F]32 über die Aufbausynthese

Nach der Trocknung und Aktivierung des [<sup>18</sup>F]Fluorids (ca. 200 MBq) nach Methode A (vgl. Kapitel 4.5.2) mit 10 mg (0,027 mmol) Kryptofix<sup>®</sup> 2.2.2 und 14 µL (0,014 mmol) einer wässrigen 1 M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung wurde eine Lösung aus 12 mg (0,025 mmol) des Markierungsvorläufers **24** in 1 mL DMF in das Reaktionsgefäß überführt. Nach 10 min Rühren bei 130 °C im Ölbad und anschließendem Abkühlen im Eisbad wurde die Aktivität der Produktlösung bestimmt.

Das Reaktionsgemisch wurde in einer 20 mL Spritze mit Kanüle in 10 mL VE-Wasser aufgenommen und das Reaktionsgefäß wurde mit 0,3 mL DMF nachgespült. Die entstandene Emulsion wurde über eine zuvor mit 10 mL EtOH und 20 mL VE-Wasser konditionierte C18-Kartusche (Sep-Pak<sup>®</sup> Plus C18, Waters) eluiert. Die Kartusche wurde mit 10 mL VE-Wasser nachgespült und mit 40 mL Luft

weitestgehend von überschüssigem Wasser befreit. Das Produkt wurde mit 0,9 mL Dioxan von der Kartusche eluiert und in einem 5 mL Wheaton V-Vial® mit Teflonrührkern und PTFE-Dichtscheibe aufgefangen. Davon wurde ein Aliquot in 300 µL HPLC-Laufmittel zur radiochromatographischen Untersuchung entnommen (HPLC-System 1, Methode 12).

Zur Entschützung wurden 0,1 mL einer 4M HCl-Lösung in Dioxan zum Reaktionsgemisch gegeben und nach 2 min bei RT für 15 min bei 80 °C im Ölbad und einem Druck von 70 mbar im Argongegenstrom vom Lösungsmittel befreit. Nach kurzem Abkühlen wurde das Produktgemisch mit 0,5 mL VE-Wasser und 0,1 mL einer 4 M wässrigen NaOH-Lösung alkalisiert. Das freie Amin [**<sup>18</sup>F26 wurde anschließend dreimal mit 1 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über eine Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Kartusche (0,9 x 4,5 cm) getrocknet und in ein 5 mL Wheaton V-Vial® mit Teflonrührkern und PTFE-Dichtscheibe überführt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck stand das freie Amin [**<sup>18</sup>F26 zur weiteren Verwendung zur Verfügung. Der Fortgang der Entschützung wurde mittels HPLC bewertet (HPLC-System 1, Methode 12 oder 13).****

Zur reduktiven Aminierung wurden 30 mg (0,09 mmol) **30** in 0,5 mL MeOH gelöst zu dem Amin [**<sup>18</sup>F26 gegeben und in Gegenwart von 30 mg (0,14 mmol) NaBH(OAc)<sub>3</sub> 15 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch eingeeengt und mit 0,1 mL 4M NaOH-Lösung alkalisiert. Das Produkt wurde dreimal mit 1 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden in ein Mikrowellengefäß überführt und bei 40 °C unter vermindertem Druck im Argongegenstrom vom Lösungsmittel befreit. Anschließend wurden 345 mg NH<sub>2</sub>OH · HCl in 1 mL EtOH und 0,5 mL VE-Wasser gelöst und ebenfalls in das Mikrowellengefäß überführt. Zur Pyrrol-Entschützung wurde das Reaktionsgemisch in der Mikrowelle bei 100 °C für 10 min bei einer Leistung von max. 50 W bestrahlt.**

Nach Abkühlen auf RT wurde ein Aliquot in ein Gemisch aus 0,5 mL des HPLC-Laufmittels und 50 µL 4 M wässriger NaOH-Lösung aufgenommen und sowohl dünnschichtchromatographisch als auch säulenchromatographisch untersucht (HPLC-System, 2 Methode 16).

#### 4.5.9 Kupfer-vermittelte Radiosynthese des Modellvorläufers 37

##### *Variante A: Zweitopfverfahren (nach 52)*

Die azeotrope Trocknung des n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids wurde nach Methode A (vgl. Kapitel 4.5.2) mit 10 mg (0,027 mmol) Kryptofix<sup>®</sup> 2.2.2 und 14  $\mu\text{L}$  (0,014 mmol) einer wässrigen 1 M  $\text{K}_2\text{CO}_3$ -Lösung durchgeführt. Die Startaktivität lag bei diesen Versuchen im Bereich zwischen 100 und 120 MBq. Das getrocknete [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid mit Anionenaktivatorsystem wurde anschließend mit 300  $\mu\text{L}$  Acetonitril angelöst. In einem zweiten 5 mL Wheaton V-Vial<sup>®</sup> mit Teflonrührkern und Silikonseptum wurden 21 mg (0,060 mmol) des Vorläufers **37** und 3,6 mg (0,005 mmol) des Kupferkomplexes  $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$  vorgelegt und anschließend mit 60  $\mu\text{L}$  des angelösten [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorierungsreagenzes entsprechend einer Aktivität zwischen 5 und 15 MBq versetzt. Nach kurzem Rühren wurden 300  $\mu\text{L}$  DMF hinzugegeben, bevor das Reaktionsgemisch für 20 min bei 110 °C rührte. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde ein Aliquot mit einem Gemisch aus Acetonitril und Wasser (v/v 1:1) verdünnt und mittels Radio-DC oder Radio-HPLC analysiert (HPLC-System 1, Methode 12).

##### *Variante B: Eintopfverfahren*

Die azeotrope Trocknung des n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids wurde nach Methode A (vgl. Kapitel 4.5.2) durchgeführt. Das Anionenaktivatorsystem aus 10 mg (0,027 mmol) Kryptofix<sup>®</sup> 2.2.2 und 14  $\mu\text{L}$  (0,014 mmol) einer wässrigen 1 M  $\text{K}_2\text{CO}_3$ -Lösung wurde in 1 mL Acetonitril gelöst und in den gewünschten Verdünnungen zur Radiosynthese eingesetzt. Die Startaktivität lag bei diesen Versuchen im Bereich zwischen 20 und 30 MBq. Zur Synthese wurden 21 mg (0,060 mmol) des Vorläufers **37** und 3,6 mg (0,005 mmol) des Kupferkomplexes  $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$  in 300  $\mu\text{L}$  DMF gelöst und in das Gefäß mit dem aktivierten n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid überführt. Nach kurzem Rühren wurde das Reaktionsgemisch für 20 min bei 110 °C gerührt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde ein Aliquot mit einem Gemisch aus Acetonitril und Wasser (v/v 1:1) verdünnt und mittels Radio-DC oder Radio-HPLC analysiert (HPLC-System 1, Methode 12).

#### 4.5.10 Kupfer-vermittelte Radiosynthese des nNOS-Inhibitors über den Boronsäureestervorläufer 40

Die azeotrope Trocknung wurde nach Methode A (vgl. Kapitel 4.5.2) mit 10 mg (0,027 mmol) Kryptofix<sup>®</sup> 2.2.2 und 14  $\mu\text{L}$  (0,014 mmol) einer wässrigen 1 M  $\text{K}_2\text{CO}_3$ -Lösung durchgeführt. Die Startaktivität lag bei diesen Versuchen im Bereich

zwischen 150 und 200 MBq. Das getrocknete [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid mit Anionenaktivatorsystem wurde anschließend mit 300  $\mu\text{L}$  Acetonitril angelöst. In einem zweiten 5 mL Wheaton V-Vial<sup>®</sup> mit Teflonrührkern und Silikonseptum wurden 30 mg (0,046 mmol) des Vorläufers **40** und 3,6 mg (0,005 mmol) des Kupferkomplexes  $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$  vorgelegt und anschließend mit 90  $\mu\text{L}$  des angelösten [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorierungsreagenzes entsprechend einer Aktivität zwischen 5 und 15 MBq versetzt. Nach kurzem Rühren wurden 300  $\mu\text{L}$  DMF hinzugegeben bevor das Reaktionsgemisch für 20 min bei 110 °C rührte. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde ein Aliquot mit einem Gemisch aus Acetonitril und Wasser (v/v 1:1) verdünnt und mittels Radio-DC analysiert.

## 5 Zusammenfassung

Im Hinblick auf das große Potential bei der Entwicklung neuer Pharmaka konnten für die Funktionsuntersuchung der NO-Synthase isoformselektive und  $^{18}\text{F}$ -markierte NOS-Inhibitoren synthetisiert werden. Dazu wurden Arbeiten in verschiedenen Disziplinen der Nuklearchemie durchgeführt. Die Untersuchungen zur Darstellung eines trägerarmen elektrophilen  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzes sind dabei sowohl den Transfertechnologien als auch der Entwicklung von Markierungsmethoden zuzuordnen. Durch ein solches Markierungsreagenz eröffnen sich ganz neuartige Synthesestrategien für die trägerarme Darstellung radiofluorierter Pharmaka.

Die prinzipielle Machbarkeit der elektrochemischen Darstellung eines elektrophilen  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzes wurde auf Basis cyclovoltammetrischer Messungen am Beispiel des *N*- $^{18}\text{F}$ Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid ( $\text{Tf}_2\text{N}-^{18}\text{F}\text{F}$ ) mit einer ionischen Flüssigkeit (IL) als Edukt untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass eine elektrokatalytische Ko-Oxidation von  $^{18}\text{F}$ Fluorid und  $\text{Tf}_2\text{N}^-$ , dem Anion der ionischen Flüssigkeit, innerhalb dessen Potentialgrenzen grundsätzlich möglich ist.

Anschließend erfolgten Elektrosyntheseversuche an einer Sigradur<sup>®</sup>G-Elektrode in einer fernsteuerbaren und auf die entsprechenden Versuche angepassten Syntheseapparatur. Nach der Interkalation des n.c.a.  $^{18}\text{F}$ Fluorids aus der wässrigen Targetlösung wurde die reine ionische Flüssigkeit in die Elektrosyntheseinheit überführt und bei 6-8 V behandelt. Zur Beurteilung, ob die Anionen  $^{18}\text{F}\text{F}^-$  und  $\text{Tf}_2\text{N}^-$  nach anodischer Ko-Oxidation an der Elektrodenoberfläche zum elektrophilen Fluorierungsreagenz  $\text{Tf}_2\text{N}-^{18}\text{F}\text{F}$  rekombinieren, wurden verschiedene Ansätze verfolgt. Da die über die direkte Fluorierung mit elementarem Fluor hergestellte  $^{19}\text{F}$ -Referenzverbindung  $\text{Tf}_2\text{N}-\text{F}$  einen direkten Nachweis des Radioaktivproduktes mittels Radio-HPLC und Radio-GC nicht ermöglichte, wurde ein indirektes Nachweisverfahren entwickelt.

Eine elektrophile Sekundärreaktion mit Phenol und Anisol zeigte reproduzierbar, dass sich ein organisches Radioaktivprodukt mit den Referenzsubstanzen chromatographisch koeluieren lässt. Trotz der geringen Signal-Rausch-Verhältnisse konnte somit die prinzipielle Machbarkeit der elektrochemischen Darstellung eines trägerarmen  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzes ausgehend von n.c.a.  $^{18}\text{F}$ Fluorid deutlich gemacht werden.

In diesem frühen Entwicklungsstadium eignete sich diese neu entwickelte Markierungsmethode jedoch noch nicht für eine effiziente Herstellung von n.c.a.  $^{18}\text{F}$ -markierten Tracern. Zur Darstellung der angestrebten trägerarmen NOS-Liganden dienten daher alternative, etablierte Markierungsmethoden, zumal auch Radiofluorierungen aliphatischer Molekülpositionen notwendig waren.

Der aus der ersten Generation substratbasierter NOS-Inhibitoren stammende iNOS-Inhibitor (5S)-5- $^{18}\text{F}$ Fluor-N6-iminoethyl-L-lysin bietet durch seine Verwandtschaft zu den im menschlichen Organismus vorkommenden Aminosäuren ein hohes Potential hinsichtlich Untersuchungen der NO-Synthase in exprimierenden Organen. Aus diesem Grund wurde zunächst eine Radiosynthese entwickelt, die ausgehend von einem vollständig geschützten Lysin-Mesylat die Darstellung von 5- $^{18}\text{F}$ Fluorlysin als Intermediat für die Derivatisierung zum gewünschten iNOS-Inhibitor ermöglicht.

Über eine dreistufige Syntheseroute wurden sowohl der Markierungsvorläufer als auch die Referenzverbindung hergestellt. In einer darauffolgenden Radiosynthese mit n.c.a.  $^{18}\text{F}$ Fluorid konnte das Mesylat mit einer Ausbeute von 40 % radiofluoriert werden. Die anschließende Entschützung lieferte erfolgreich das 5- $^{18}\text{F}$ Fluorlysin mit einer radiochemischen Gesamtausbeute von etwa 10 %. Die Derivatisierung der terminalen Aminofunktion über einen Kupferkomplex zu (5RS)-5- $^{18}\text{F}$ Fluor-N6-iminoethyl-DL-lysin gelang bisher auch nach vielseitiger Variation der Reaktionsparameter nicht. Das entwickelte 5- $^{18}\text{F}$ Fluorlysin steht jedoch alternativ als Tracer für präklinische Untersuchungen hinsichtlich des Aminosäuretransports und des Proteinstoffwechsels zu Verfügung.

Eine potentielle Alternative zum substratbasierten iNOS-Inhibitor stellt der Ligand 4-(2- $^{18}\text{F}$ Fluorpropyl)-4-methyl-2-aminopyridin (**[ $^{18}\text{F}$ ]18**) dar, dessen Radiosynthese unter n.c.a. Bedingungen für spätere *in vivo* Anwendungen im Rahmen dieser Arbeit optimiert wurde. Anders als in einer früheren Publikation postuliert, ergab eine Stabilitätsuntersuchung des Markierungsvorläufers und des fluorierten Zwischenproduktes, dass eine konkurrierende Eliminierungsreaktion unter Markierungsbedingungen nicht die Ursache der zuvor beobachteten niedrigen radiochemischen Ausbeute von 6 % war. Zur Reaktionsoptimierung wurden Zeit- und Temperaturabhängigkeiten in verschiedenen Lösungsmitteln bestimmt. Mit einem Lösungsmittelgemisch aus *tert.*-Butanol und Acetonitril in Anwesenheit von Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat konnte die radiochemische Ausbeute der nukleophilen

Substitution mit n.c.a. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid nach einer Reaktionszeit von 120 min bei 150 °C bis auf 31 % gesteigert werden. Unter Berücksichtigung des radioaktiven Zerfalls wurde ein Ausbeutemaximum bereits nach einer Reaktionszeit von 50 min mit einer RCA von 19 % erzielt. Folglich musste die früher beobachtete niedrige Ausbeute auf eine unerwartete Reaktionsträgheit zurückgeführt werden.

Nach Optimierung der  $\text{S}_{\text{N}}$ -Reaktion konnte die Radiosynthese auf ein Eintopfverfahren mit erheblich geringerem apparativen Aufwand übertragen werden, welches das gewünschte Produkt in hoher radiochemischer Reinheit mit einer radiochemischen Ausbeute von durchschnittlich 26 % lieferte.

Mithilfe der angepassten Reaktionsbedingungen konnte 4-(2-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorpropyl)-4-methyl-2-aminopyridin nunmehr über eine effektive Radiosynthese im Hinblick auf eine Automatisierung in einem vielversprechenden Eintopfverfahren hergestellt werden. Zusammen mit einem alternativen HPLC-Trennverfahren, welches ohne die Verwendung toxischer Eluenten auskommt, ist nun die Basis für Untersuchungen der induzierbaren Stickstoffmonoxid-Synthase gegeben.

Weiterhin war der Peptid-basierte NOS-Inhibitor 6-((3-((3-Fluorphenylethylamino)-methyl)phenoxy)methyl)-4-methylpyridin-2-amin (**32**) von großem Interesse. Dieser Ligand weist hinsichtlich seines Bindungsprofils eine große Isoform-Selektivität gegenüber der neuronalen NO-Synthase auf und eröffnet über eine Analogmarkierung den potentiellen Zugang zur Untersuchung der neuronalen NO-Synthase über die Positronen-Emissions-Tomographie.

Ein erstes Synthesekonzept für die Darstellung des  $^{18}\text{F}$ -markierten nNOS-Inhibitors sah eine Aufbausynthese vor. Der dazu verwendete Boc-geschützte Ylid-Vorläufer **24** konnte nach einer verbesserten Aufreinigungsmethode mit einer Ausbeute von 43 % isoliert und charakterisiert werden.

Zur eindeutigen Identifizierung des  $^{18}\text{F}$ -markierten nNOS-Liganden [ $^{18}\text{F}$ ]**32** wurde nach der literaturbekannten Synthese die korrespondierende  $^{19}\text{F}$ -Referenzsubstanz hergestellt und charakterisiert, wobei die Ausbeute der reduktiven Aminierung durch Verwendung eines protischen Lösungsmittels um ca. 30 % verbessert wurde.

Die trägerarme Radiofluorierung des Iodoniumylids **24** lieferte nach einigen Optimierungen erfolgreich das Boc-geschützte Zwischenprodukt 3-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorphenylethylamin ([ $^{18}\text{F}$ ]**27**) mit einer radiochemischen Ausbeute von 79 %, das zur Beurteilung einer möglichen Isomerenbildung entschützt und mittels Radio-HPLC



über ein Gradientenverfahren analysiert wurde. Die Radioanalytik bewies eine regioselektive Fluorierungsreaktion für alle getesteten Systeme, was eine isomerenreine Analogmarkierung des nNOS-Inhibitors ermöglichte. Eine früher am Beispiel von Anisolderivaten beobachtete fehlende Regioselektivität wurde daher auf die dabei verwendete elektrochemische Nuklidauflreinigung zurückgeführt, da sie bei den Untersuchungen hier die einzige nicht reproduzierte Variable darstellte.

Nach der quantitativen Entschützung des  $^{18}\text{F}$ -markierten Zwischenprodukts **[ $^{18}\text{F}$ ]27** erfolgte die reduktive Aminierung mit einem entsprechenden Aldehyd **30** womit das Kupplungsprodukt, der Pyrrol-geschützte nNOS-Inhibitor **[ $^{18}\text{F}$ ]31** in radiochemischen Ausbeuten zwischen 6 und 40 % erzeugt wurde. Die anschließende Entfernung der Pyrrol-Schutzgruppe mittels der Mikrowellentechnik lieferte erstmals den potentiellen und isoformselektiven nNOS-Inhibitor **[ $^{18}\text{F}$ ]32**.

Weiterhin wurde gezeigt, dass die Kupfer(II)-vermittelte  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung ausgehend von einem Boronsäureester-Vorläufer eine vielversprechende Alternative zur mehrstufigen Aufbausynthese von **[ $^{18}\text{F}$ ]32** darstellt. Anhand einer Modellverbindung wurde festgestellt, dass die radiochemische Ausbeute der Kupfer-vermittelten Radiofluorierung maßgeblich von der Menge des zur Anionenaktivierung eingesetzten Salzes abhängt, was auch die früher notwendige Verwendung eines Zweitopfverfahrens in der zugrundeliegenden Veröffentlichung erklärt.

Die sukzessive Verringerung der Stoffmenge des Basensystems aus Kryptofix® 2.2.2 und Kaliumcarbonat bewirkte im Falle einer Modellverbindung eine deutliche Ausbeutesteigerung auf bis zu 52 %. Diese Erkenntnisse ermöglichten außerdem die Durchführung der Radiosynthese von **[ $^{18}\text{F}$ ]32** als Eintopfverfahren.

Im Anschluss an diese Basisuntersuchungen wurde daher für die Direktmarkierung des nNOS-Inhibitors ein vollständig geschützter Boronsäureester-Vorläufer hergestellt. Die trägerarme Radiomarkierung in Anwesenheit des Kupfer(II)-Komplexes lieferte reproduzierbar das gewünschte Produkt **[ $^{18}\text{F}$ ]41** mit einer radiochemischen Ausbeute von bis zu 15 %. Zur gleichzeitigen Entfernung der Pyrrol- und der Boc-Schutzgruppe eignete sich erneut die im Rahmen der Aufbausynthese bereits erfolgreich eingesetzte Mikrowellentechnik.

Mit der erfolgreichen Entwicklung eines effektiven Eintopfverfahrens und der Kupfer(II)-vermittelten Radiofluorierung des isoformselektiven nNOS-Liganden ist nun der Grundstein für ein vereinfachtes Synthesekonzept zur Darstellung von

**[<sup>18</sup>F]32** gelegt. Neben dem iNOS-Inhibitor **[<sup>18</sup>F]18**, der nunmehr über ein Eintopfverfahren in optimierten radiochemischen Ausbeuten von 19 % zugänglich ist, wurde weiterhin erstmals ein neuronaler NOS-Inhibitor **[<sup>18</sup>F]32** über eine Aufbausynthese hergestellt. Somit stehen jetzt für zwei physiologisch und pathophysiologisch interessante Isoformen der NO-Synthase <sup>18</sup>F-markierte Inhibitoren als Sonden für weitere bildgebende pharmakologische, präklinische und möglicherweise diagnostische Untersuchungen zur Verfügung.

## 6 Anhang

### 6.1 CV-Apparatur

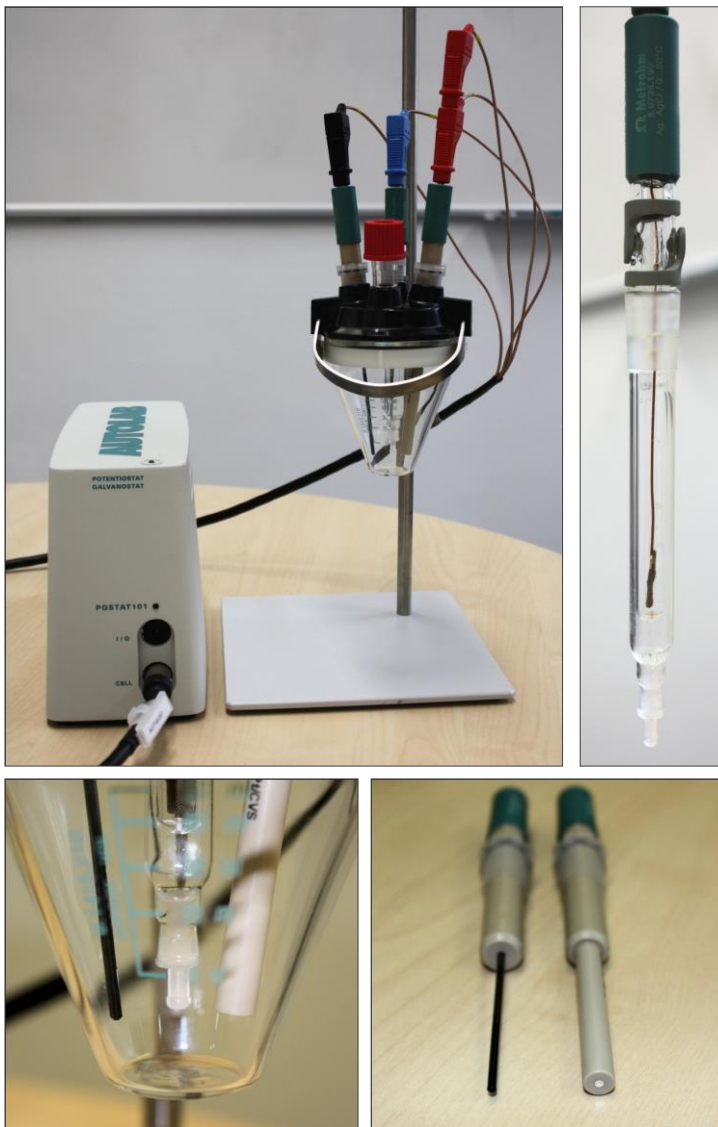


Abbildung 6.1: CV-Apparatur

o.l.: CV-Setup mit Potentiostat

o.r.: Ag/AgCl-Referenzelektrode

u.l.: Vergrößerung der CV-Zelle

u.r.: Sigradur-Gegenelektrode

und Platin-Arbeitselektrode

## 6.2 Cyclovoltammogramme

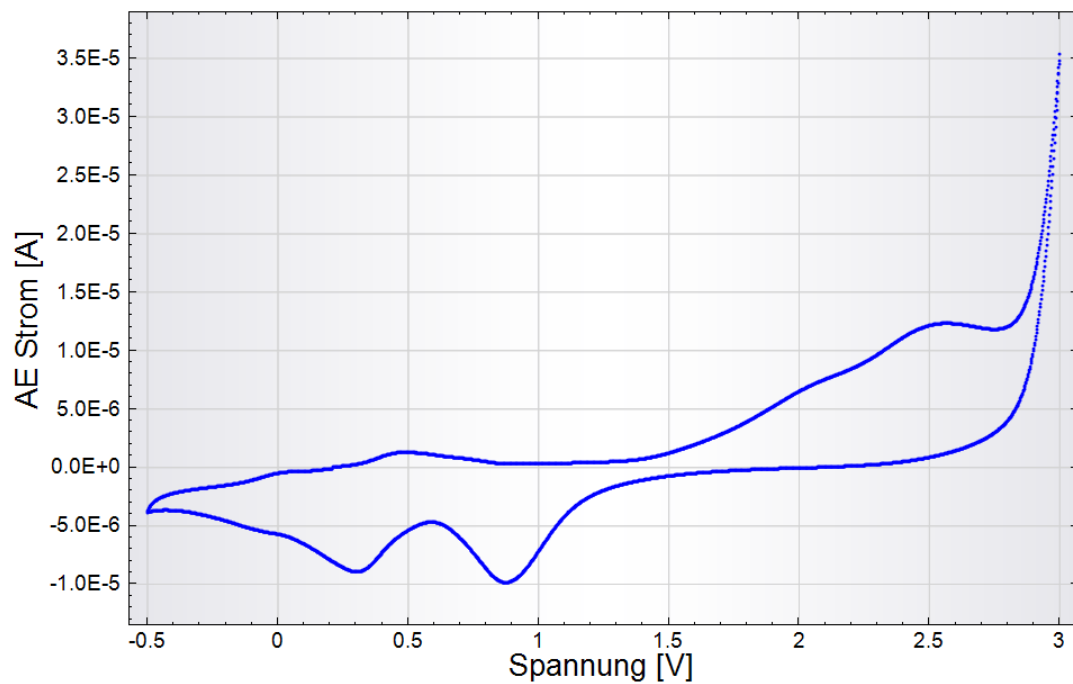


Abbildung 6.2: CV von BMPTf<sub>2</sub>N zwischen -0,5 V und 3 V bei 100 mV/s.

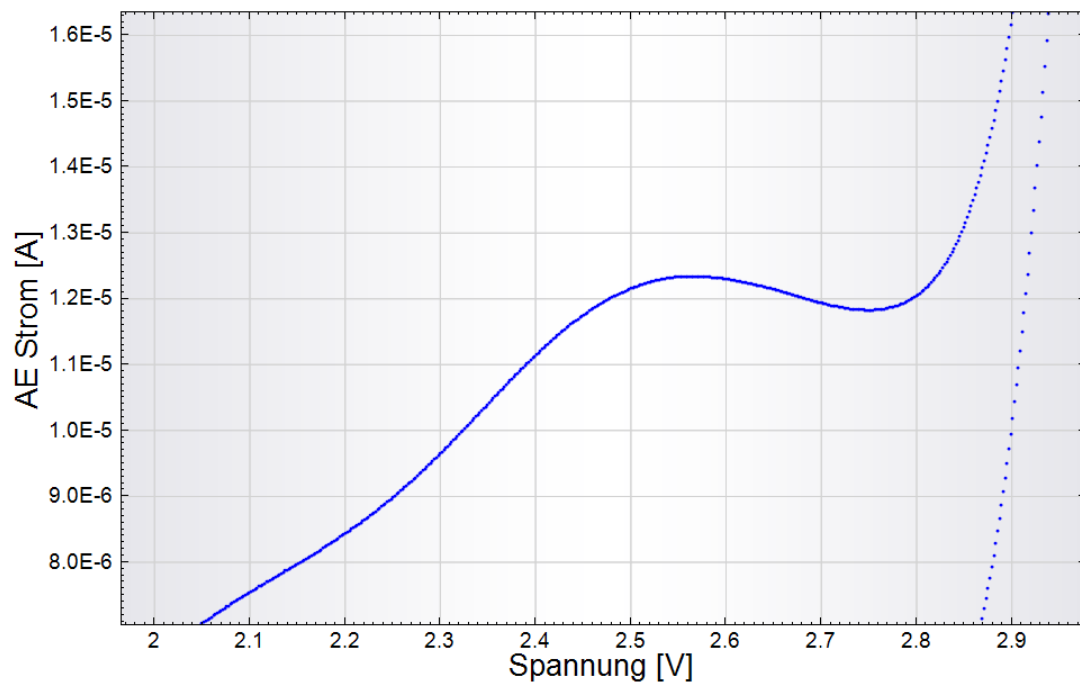


Abbildung 6.3: Vergrößerung des CV aus Abb. 6.2 im anodischen Potentialbereich.

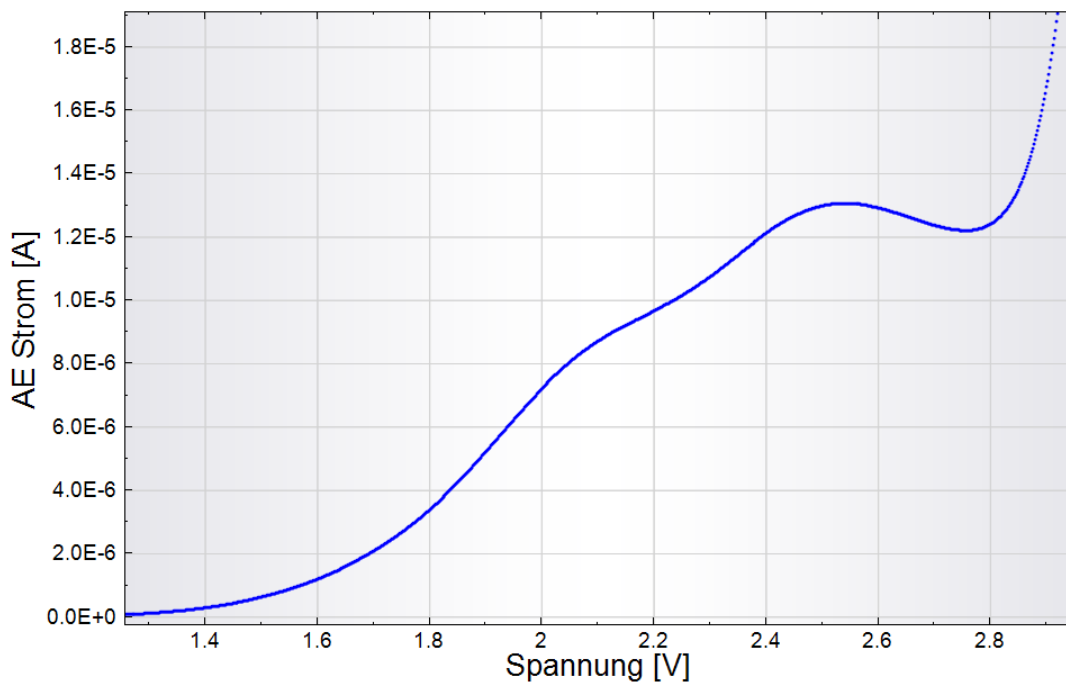


Abbildung 6.4: Ausschnitt des CV von BMPTf<sub>2</sub>N zwischen -0,5 V und 4 V bei 100 mV/s.

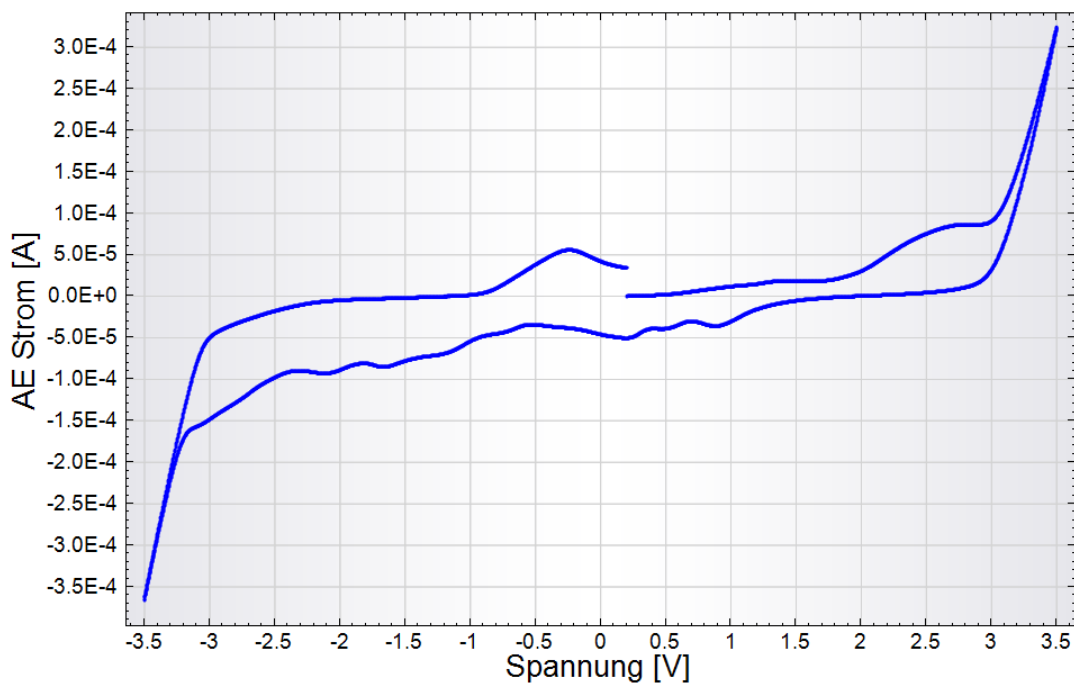


Abbildung 6.5: CV von BMPTf<sub>2</sub>N zwischen -3,5 V und 3,5 V bei 1000 mV/s.

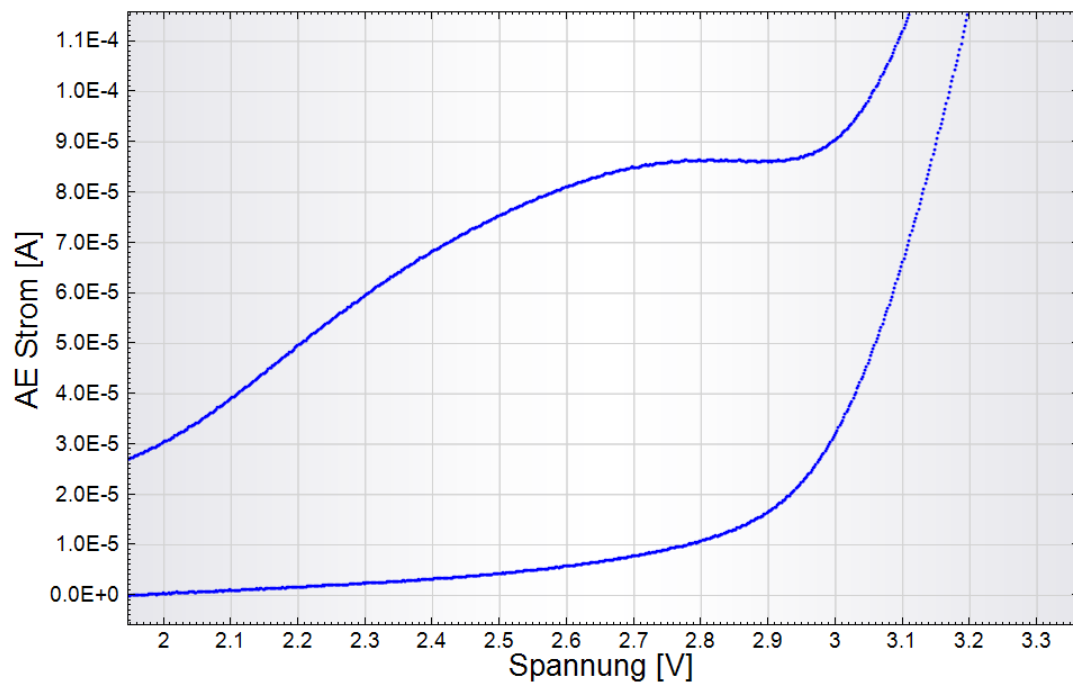


Abbildung 6.6: Vergrößerung des CV aus Abbildung 6.5 im anodischen Potentialbereich.

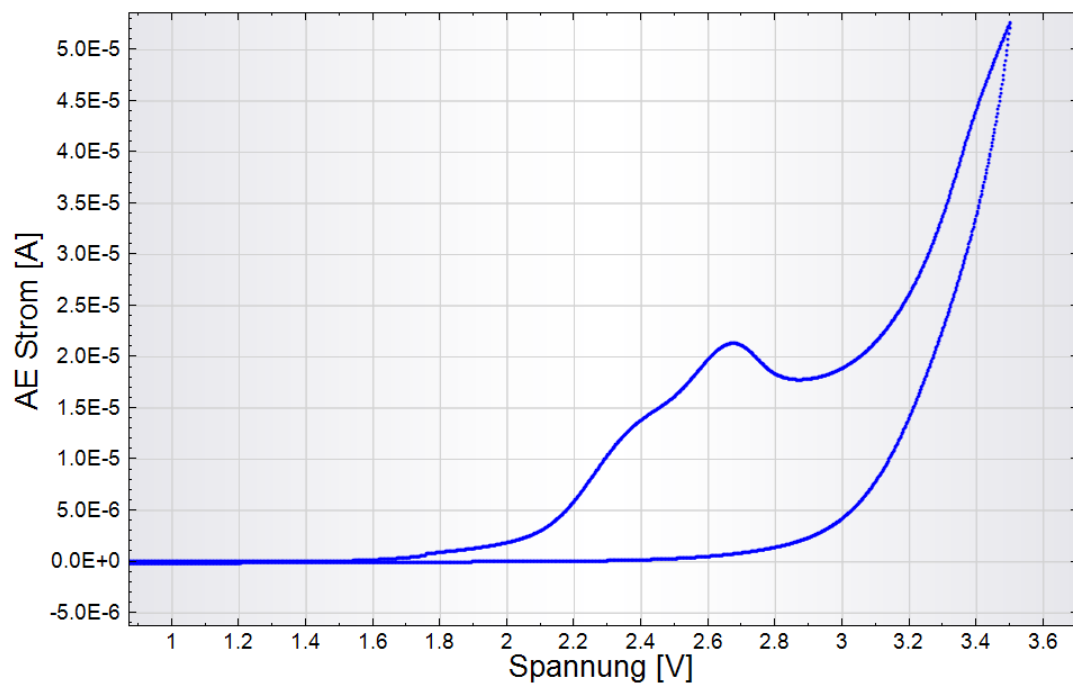


Abbildung 6.7: Ausschnitt des CV von  $\text{BMPTf}_2\text{N}$  zwischen -3,5 V und 3,5 V bei 25 mV/s.

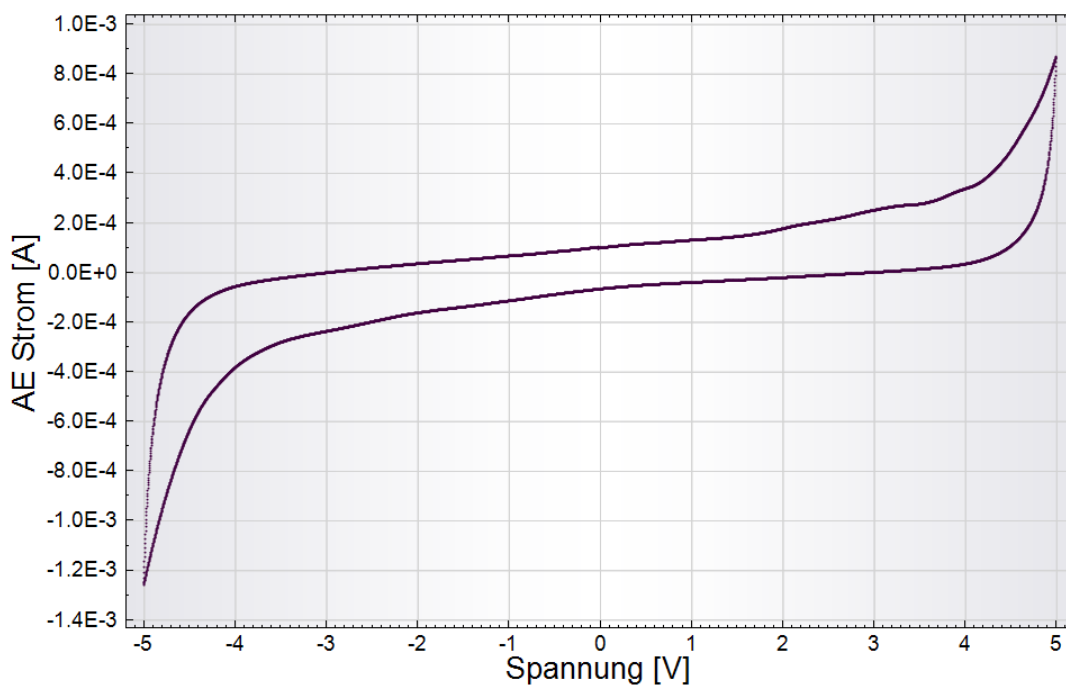


Abbildung 6.8: CV von BMPTf<sub>2</sub>N zwischen -5 V und 5 V bei 100 mV/s.

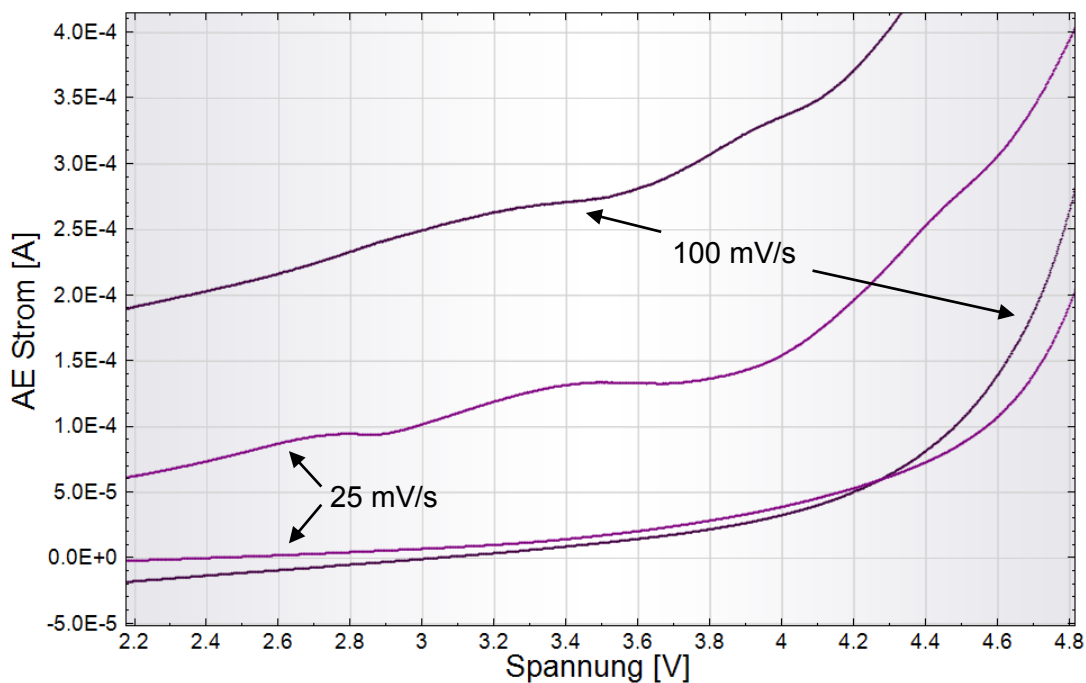


Abbildung 6.9: CV von BMPTf<sub>2</sub>N zwischen -5 V und 5 V bei 25 mV/s und bei 100 mV/s.

### 6.3 HPLC-Chromatogramme

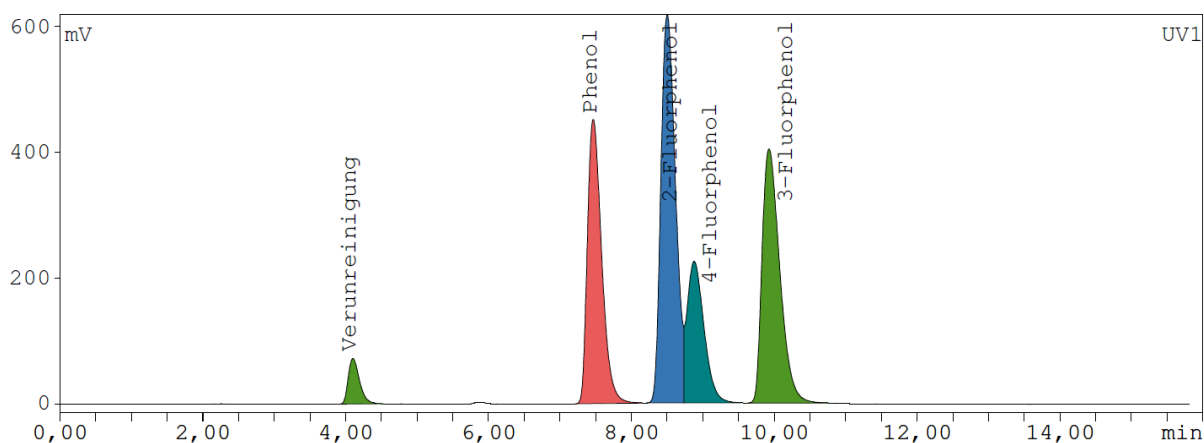


Abbildung 6.10: UV-Chromatogramm der Trennung von Phenol, 2-Fluorphenol (8,50 min), 4-Fluorphenol (9,14 min), 3-Fluorphenol (9,93 min); HPLC-System 1, Methode 1.

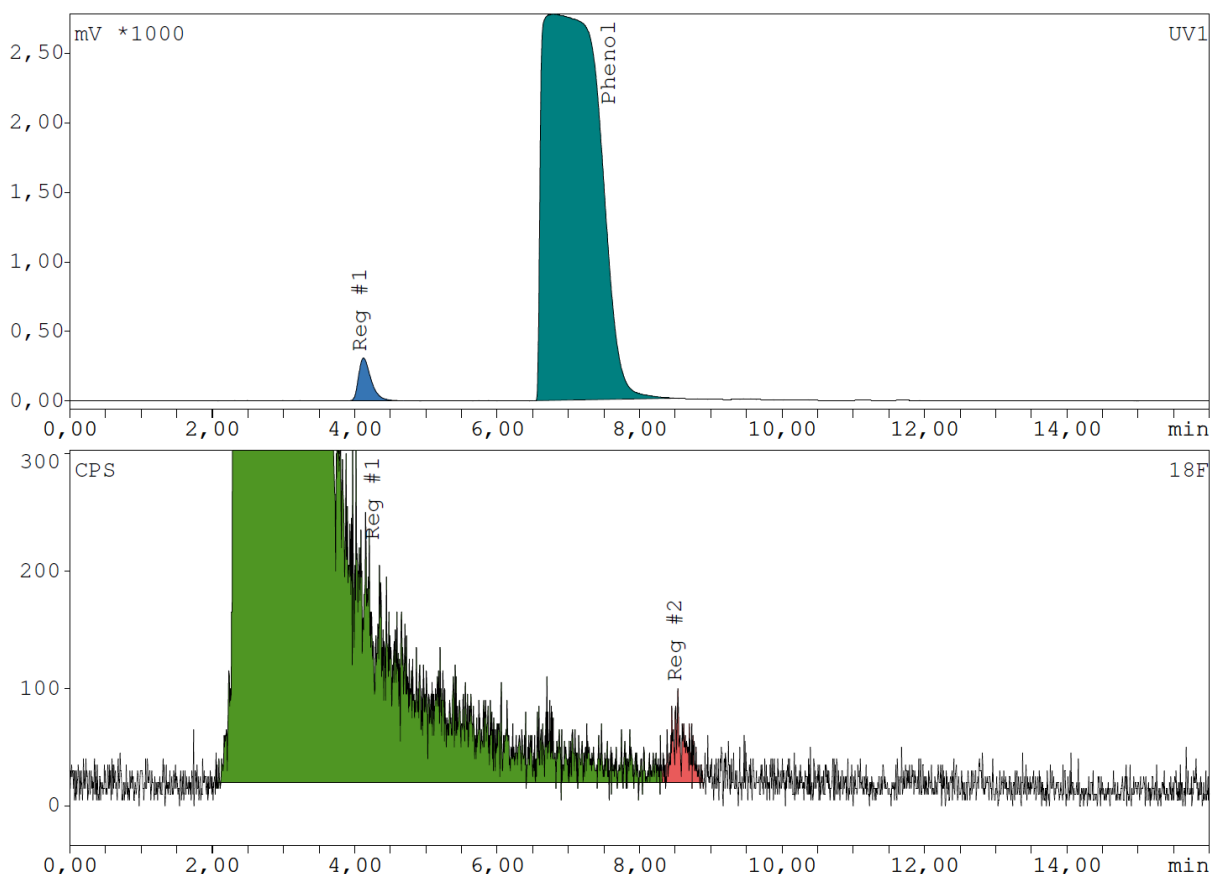


Abbildung 6.11: UV-Chromatogramm (oben) und  $\gamma$ -Chromatogramm (unten) der Produktlösung nach Elektrosynthese mit  $BMPTf_2N$  und anschließender Monitorsynthese mit Phenol. Das Rohprodukt wurde mittels  $SiO_2$ -Kartusche gereinigt;  $\gamma$ -Reg #1: 2,47 min,  $\gamma$ -Reg #2: 8,54 min; HPLC-System 1, Methode 1.



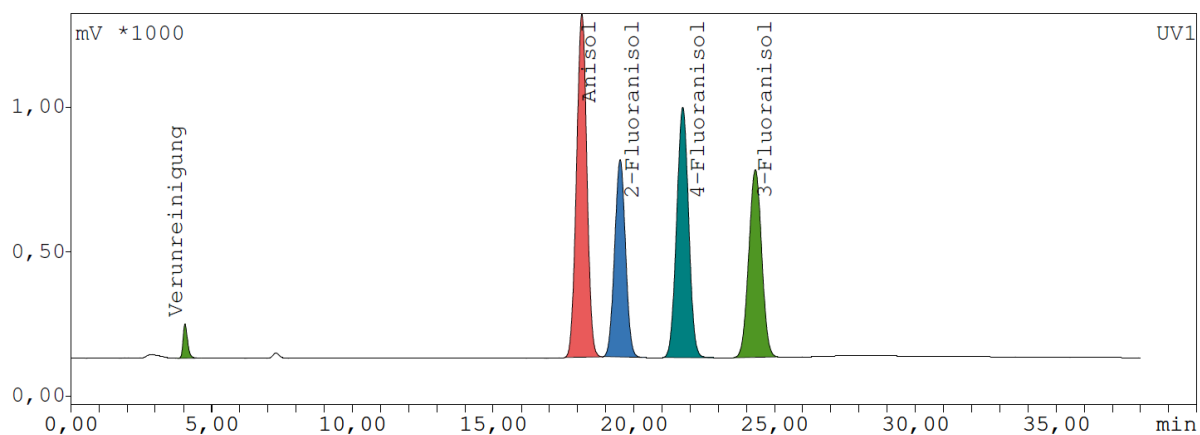


Abbildung 6.12: UV-Chromatogramm der Trennung von Anisol (18,16 min), 2-Fluoranol (19,52 min), 4-Fluoranol (21,74 min), 3-Fluoranol (24,32 min); HPLC-System 1, Methode 2.

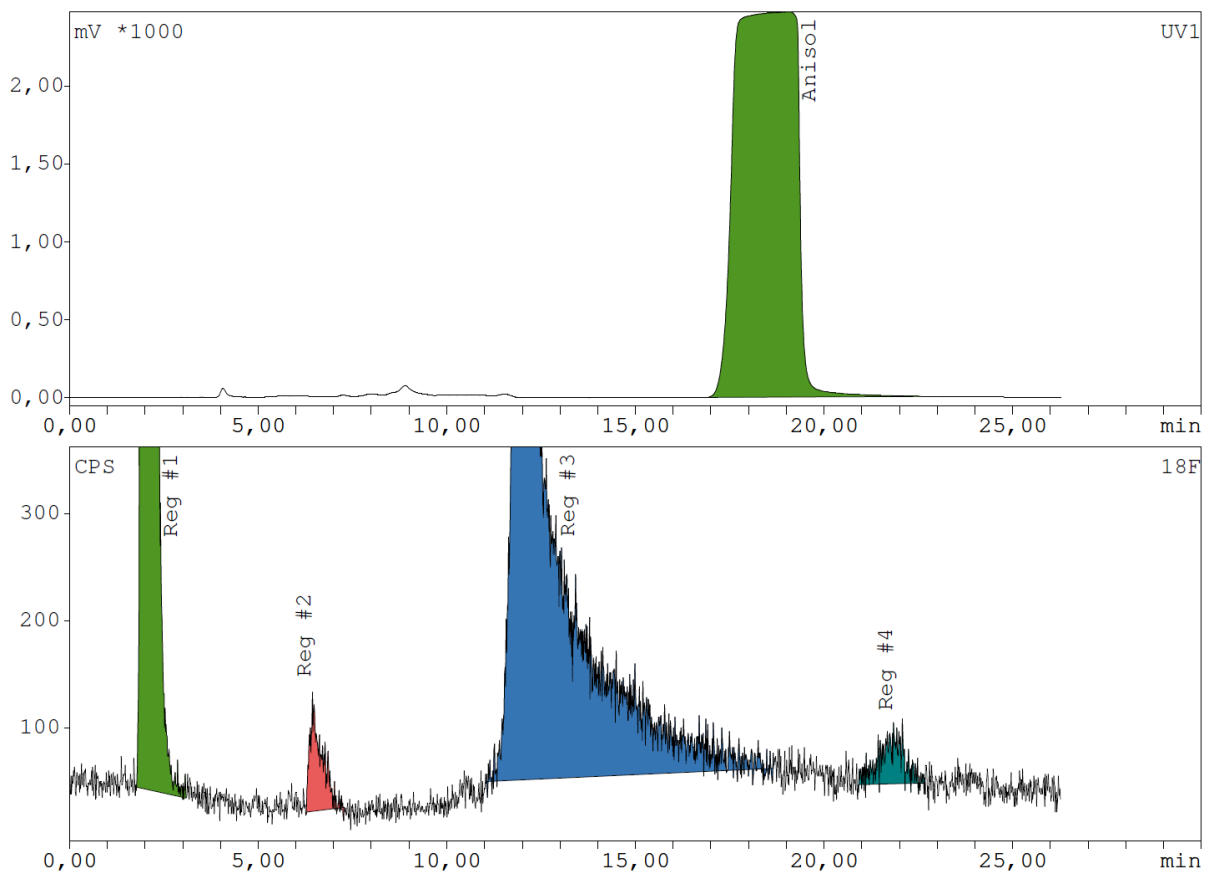


Abbildung 6.13: UV-Chromatogramm (oben) und  $\gamma$ -Chromatogramm (unten) der Produktlösung nach Elektrosynthese mit  $\text{BMPTf}_2\text{N}$  und anschließender Monitorsynthese mit Anisol. Das Rohprodukt wurde mittels  $\text{SiO}_2$ -Kartusche gereinigt und mit Chloroform extrahiert;  $\gamma$ -Reg #1: 2,04 min,  $\gamma$ -Reg #2: 6,43 min,  $\gamma$ -Reg #3: 11,95 min,  $\gamma$ -Reg #4: 21,84 min; HPLC-System 1, Methode 2.

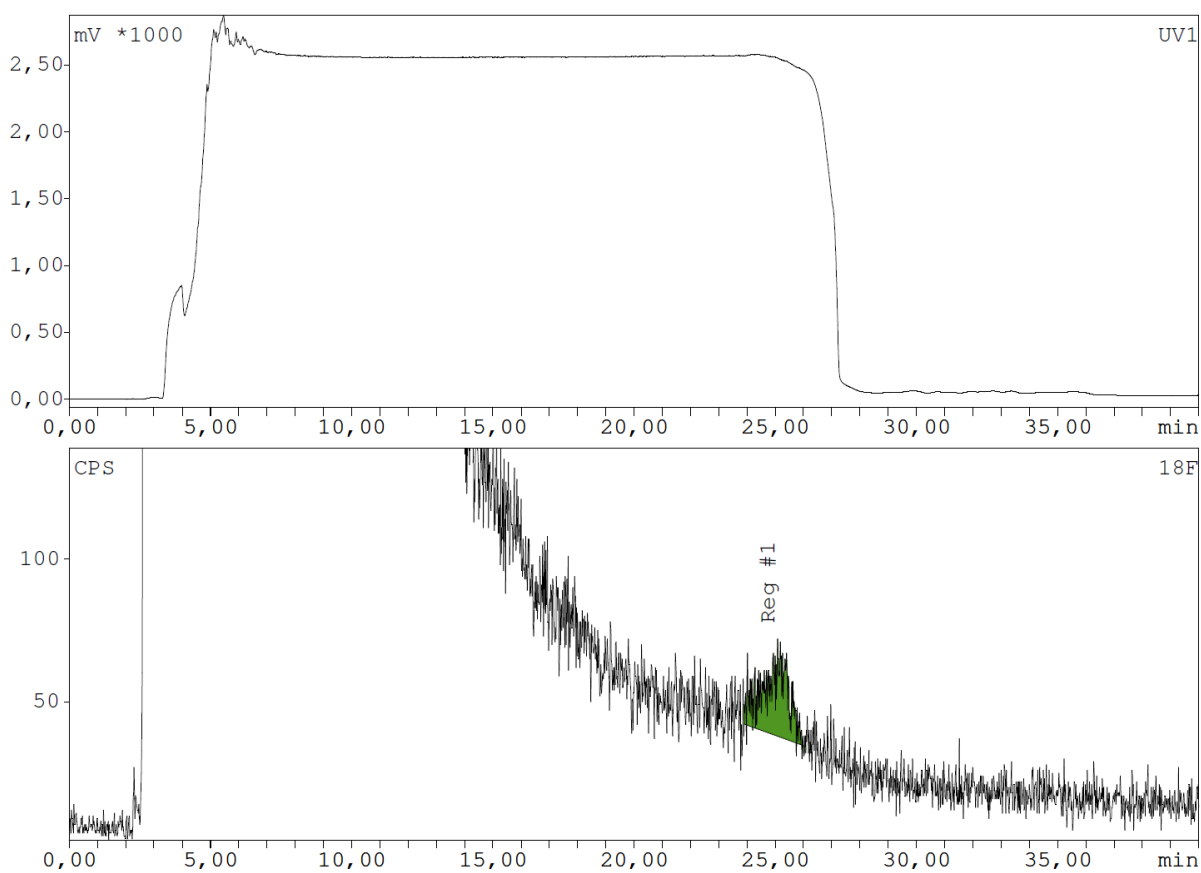


Abbildung 6.14: UV-Chromatogramm (oben) und  $\gamma$ -Chromatogramm (unten) der Produktlösung nach Elektrosynthese mit  $\text{BMPTf}_2\text{N}$  und anschließender Monitorsynthese mit Anisol. Das Rohprodukt wurde mittels  $\text{SiO}_2$ -Kartusche gereinigt und mit Chloroform extrahiert;  $\gamma$ -Reg #1: 25,09 min; HPLC-System 1, Methode 3.

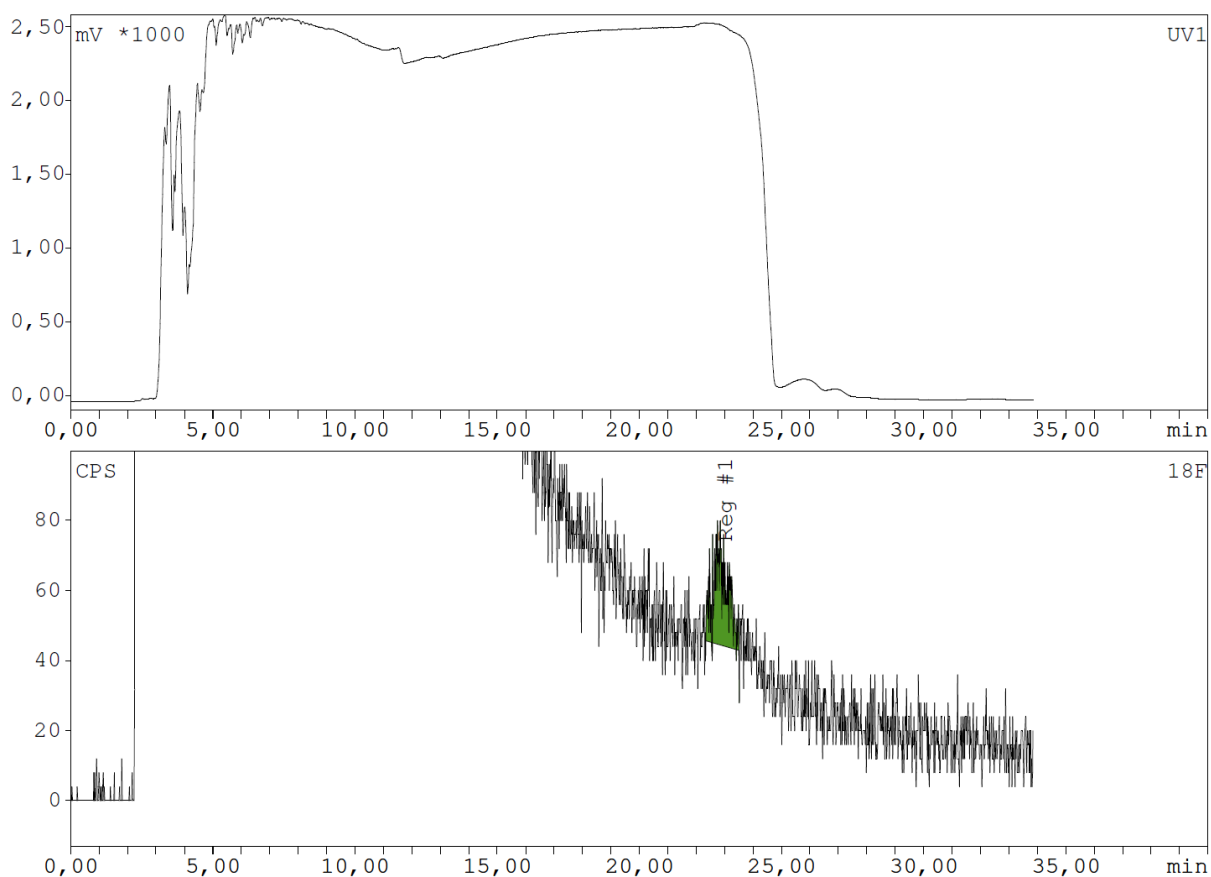


Abbildung 6.15: UV-Chromatogramm (oben) und  $\gamma$ -Chromatogramm (unten) der Produktlösung nach Elektrosynthese mit  $\text{BMPTf}_2\text{N}$  und anschließender Monitorsynthese mit Anisol. Das Rohprodukt wurde mittels  $\text{SiO}_2$ -Kartusche gereinigt und mit Chloroform extrahiert;  $\gamma$ -Reg #1: 22,76 min; HPLC-System 1, Methode 3.

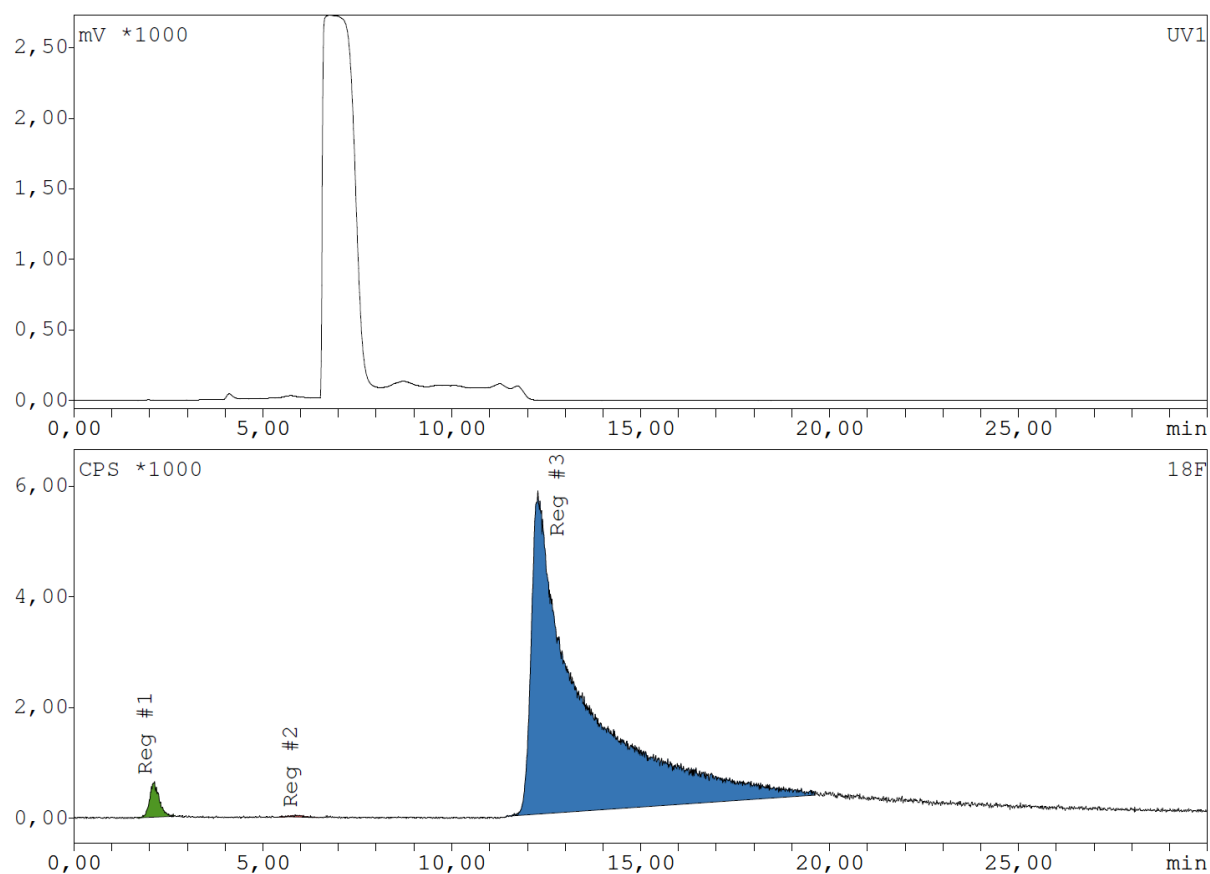


Abbildung 6.16: UV-Chromatogramm (oben) und  $\gamma$ -Chromatogramm (unten) der Produktlösung nach Elektrosynthese mit  $\text{BMPTf}_2\text{N}$  und anschließender Monitorsynthese mit Phenol. Das Rohprodukt wurde mittels  $\text{SiO}_2$ -Kartusche gereinigt;  $\gamma$ -Reg #1: 2,11 min,  $\gamma$ -Reg #2: 5,95 min,  $\gamma$ -Reg #3: 12,35 min; HPLC-System 1, Methode 4

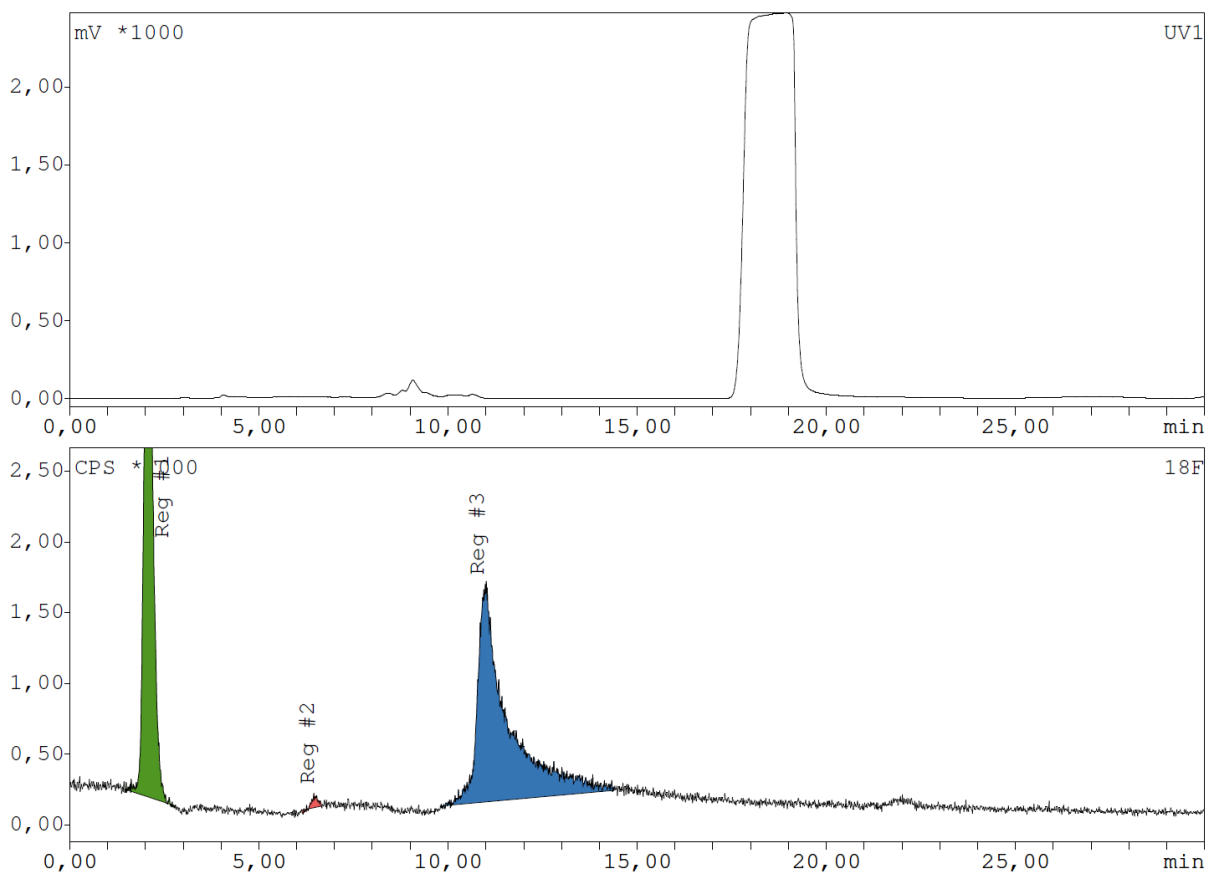


Abbildung 6.17: UV-Chromatogramm (oben) und  $\gamma$ -Chromatogramm (unten) der Produktlösung nach Elektrosynthese mit  $\text{BMPTf}_2\text{N}$  und anschließender Monitorsynthese mit Anisol. Das Rohprodukt wurde mittels  $\text{SiO}_2$ -Kartusche gereinigt;  $\gamma$ -Reg #1: 2,06 min,  $\gamma$ -Reg #2: 6,52 min,  $\gamma$ -Reg #3: 10,99 min; HPLC-System 1, Methode 4.

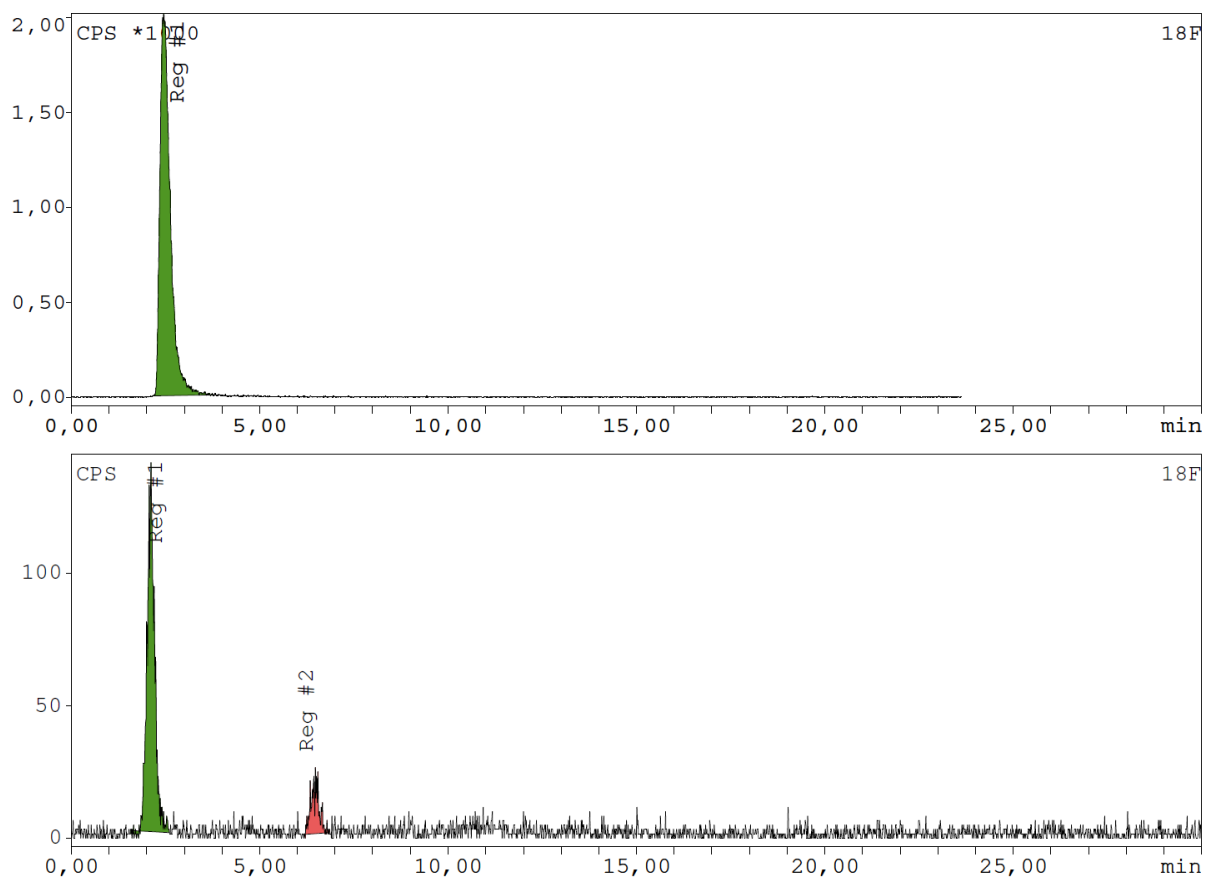


Abbildung 6.18: Oben:  $\gamma$ -Chromatogramm der Produktlösung des Versuches ohne Elektrosynthesespannung, ohne anschließende Monitorsynthese und ohne  $\text{SiO}_2$ -Kartuschenabtrennung;  $\gamma$ -Reg #1: 2,46 min; System 1, Methode 2. Unten:  $\gamma$ -Chromatogramm der Produktlösung nach Elektrosynthese ohne anschließende Monitorsynthese. Das Rohprodukt wurde mittels  $\text{SiO}_2$ -Kartusche gereinigt;  $\gamma$ -Reg #1: 2,12 min,  $\gamma$ -Reg #2: 6,48 min; HPLC-System 1, Methode 2.

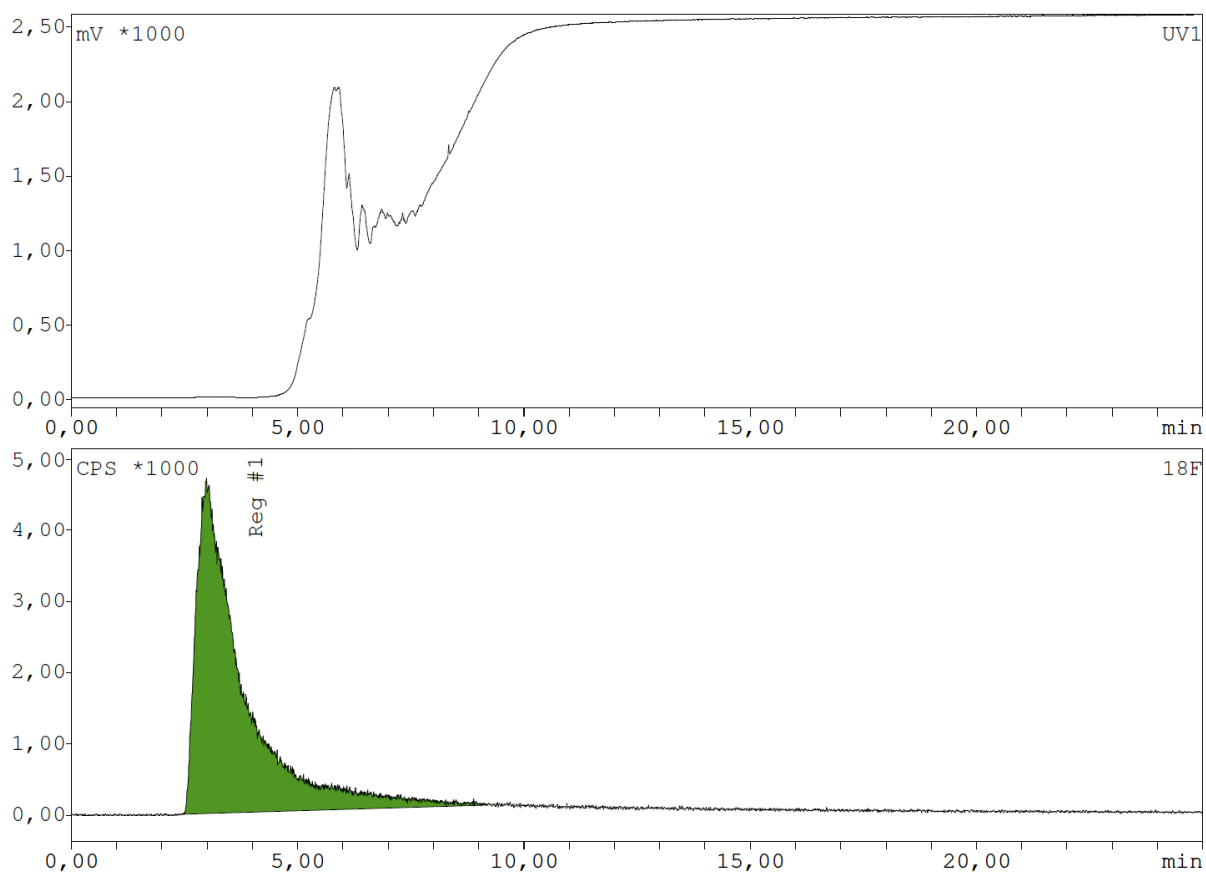


Abbildung 6.19: UV-Chromatogramm (oben) und  $\gamma$ -Chromatogramm (unten) der Produktlösung nach Elektrosynthese mit  $\text{TOMATf}_2\text{N}$  und anschließender Monitorsynthese mit Anisol. Das Rohprodukt wurde mittels  $\text{SiO}_2$ -Kartusche gereinigt und mit Chloroform extrahiert;  $\gamma$ -Reg #1: 3,85 min; HPLC-System 1, Methode 3.

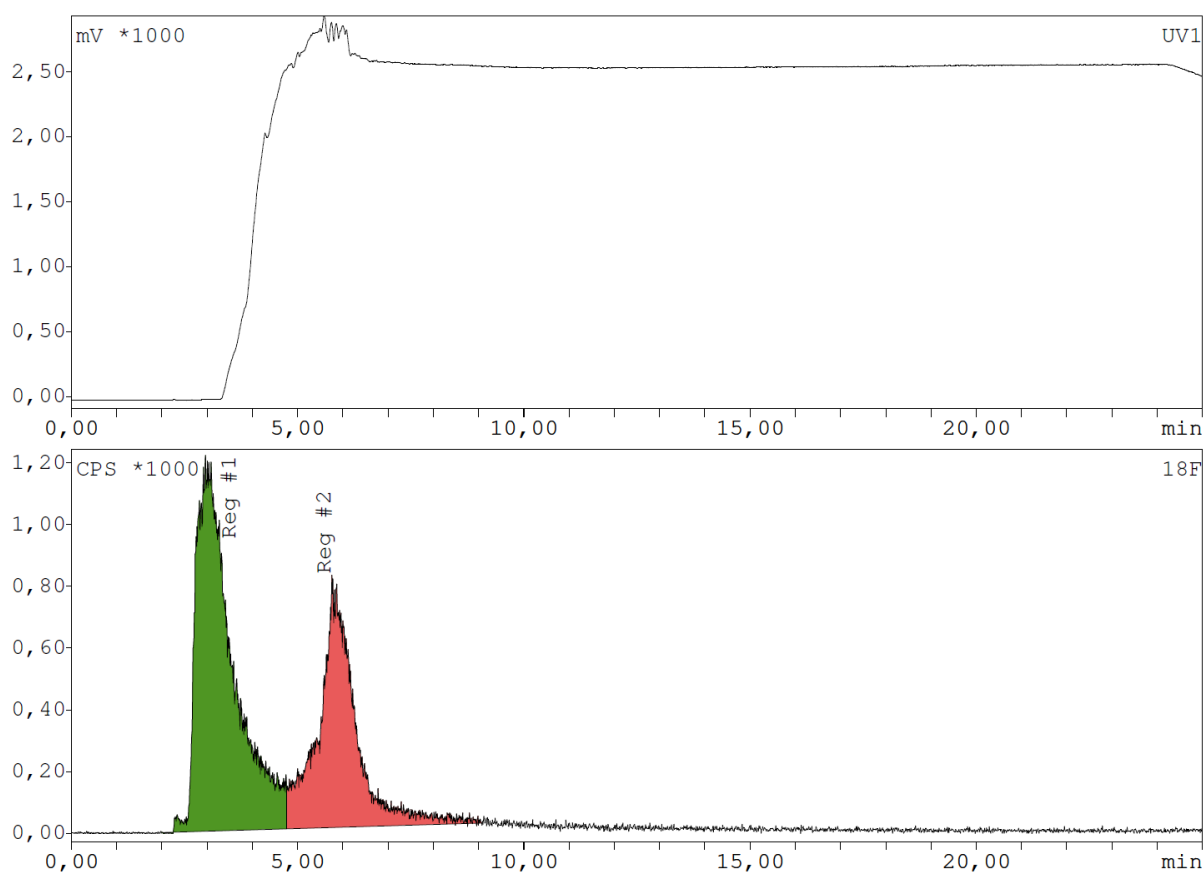


Abbildung 6.20: UV-Chromatogramm (oben) und  $\gamma$ -Chromatogramm (unten) der Produktlösung nach Elektrosynthese mit  $\text{AMITf}_2\text{N}$  und anschließender Monitorsynthese mit Anisol. Das Rohprodukt wurde mittels  $\text{SiO}_2$ -Kartusche gereinigt und mit Chloroform extrahiert;  $\gamma$ -Reg #1: 2,97 min,  $\gamma$ -Reg #2: 5,76 min; HPLC-System 1, Methode 3.

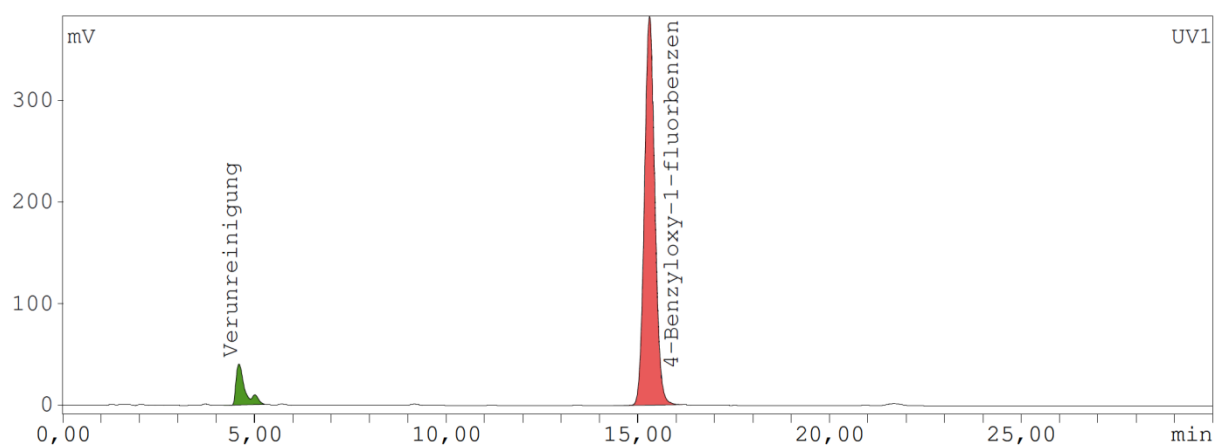


Abbildung 6.21: UV-Chromatogramm der Trennung von 4-Benzyl oxy-1-fluorbenzen (15,31 min); HPLC-System 1, Methode 5.



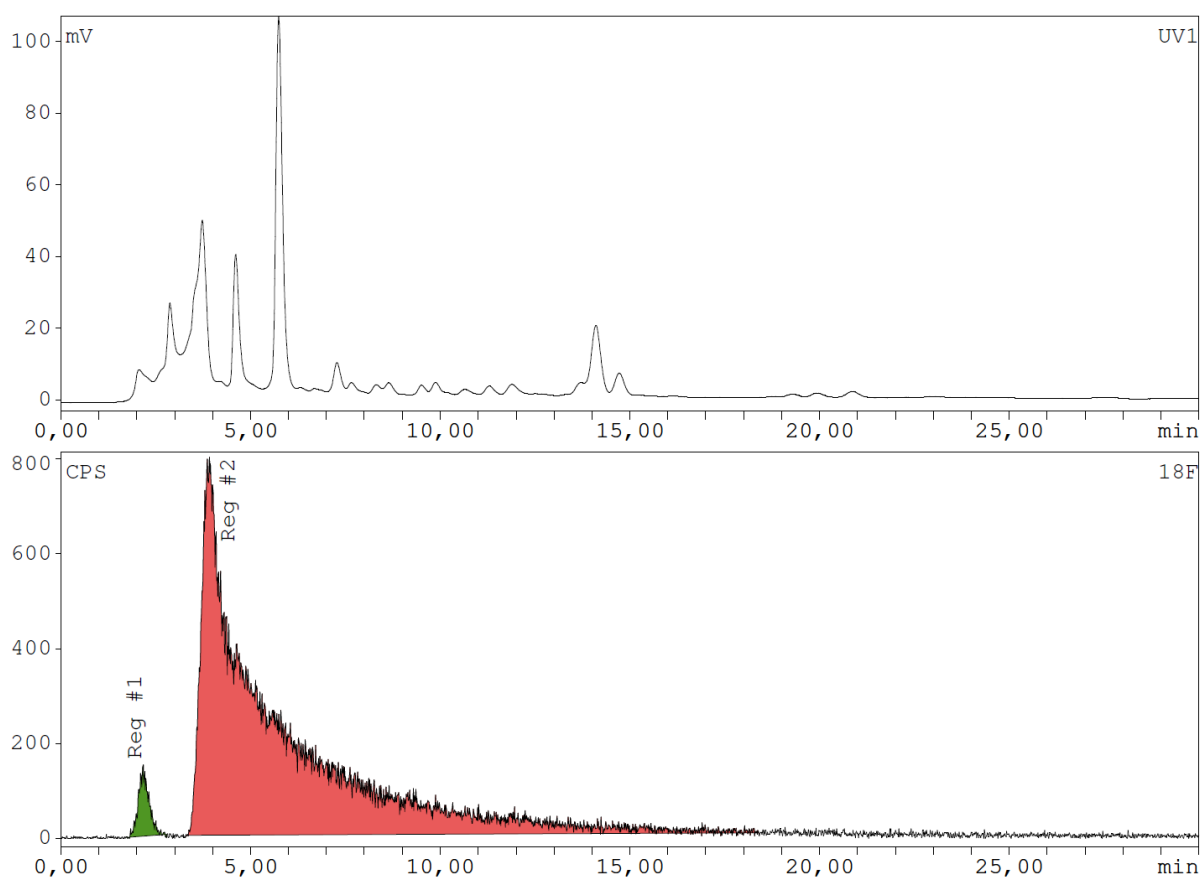


Abbildung 6.22: UV-Chromatogramm (oben) und  $\gamma$ -Chromatogramm (unten) der Produktlösung nach Elektrosynthese mit  $\text{BMPTf}_2\text{N}$  und anschließender Monitorsynthese mit (4-Benzyloxyphenyl)tributylstannan. Das Rohprodukt wurde mittels  $\text{SiO}_2$ -Kartusche gereinigt und mit Chloroform extrahiert;  $\gamma$ -Reg #1: 2,16 min,  $\gamma$ -Reg #2: 3,86 min; HPLC-System 1, Methode 5.

## 7 Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
A	Ampere
Abb.	Abbildung
B <sub>2</sub> pin <sub>2</sub>	Bis(pinakolato)diboron
BDD	Bor-dotierter Diamant
BMImOTf	1-Butyl-3-methylimidazoliumtrifluormethansulfonat
Bq	Becquerel
BuOH	Butanol
bzw.	beziehungsweise
c.a.	Träger zugesetzt (engl. carrier-added)
c.f.	trägerfrei (engl. carrier-free)
ca.	circa
CV	Cyclovoltammetrie, Cyclovoltammogramm
d	Dublett (NMR)
d	Tage
DC	Dünnschichtchromatographie
DCE	1,2-Dichlorethan
DCM	Dichlormethan
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
E	Dielektrizitätskonstante
EC	Elektroneneinfang (engl. electron capture)
EE	Essigsäureethylester
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
et al.	et alii / et aliae
FDG	2-Fluor-2-deoxy-D-glucose
Fluor-L-dopa	Fluor-3,4-dihydroxy-L-phenylalanin
g	Gramm
GBq	Gigabecquerel
Gew.	Gewicht
Gl.	Gleichung
h	Stunde
HPLC	high pressure liquid chromatography
IL	ionische Flüssigkeit (engl. ionic liquid)
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
k'	Kapazitätsfaktor
keV	Kiloelektronenvolt
kg	Kilogramm
K <sub>i</sub>	Dissoziationskonstante

---

kV	Kilovolt
Lit.	Literatur
M	molar
m	Multiplett (NMR)
mbar	Millibar
<i>m</i> CPBS	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
MBq	Megabecquerel
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
MeV	Megaelektronenvolt
mg	Milligramm
min	Minute
mind.	mindestens
mL	Milliliter
mmol	Millimol
mV	Millivolt
n.c.a.	trägerarm (engl. no-carrier-added)
NFSi	<i>N</i> -Fluordiphenylsulfonimid
NHSi	Diphenylsulfonimid
nmol	Nanomol
NMR	Kernspinresonanz (engl. nuclear magnetic resonance)
nNOS	neuronale Stickstoffmonoxid-Synthase
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
o. l.	oben links
o. r.	oben rechts
OTf	Triflat-Anion
PE	Petrolether
PET	Positronenemissionstomographie
R <sub>f</sub>	Retentionsfaktor
rp	Umkehrphase (engl. reversed phase)
RT	Raumtemperatur
S	Siemens
s	Sekunde
s	Singulett (NMR)
S <sub>E</sub> Ar	elektrophile aromatische Substitution
SET	Ein-Elektronen-Transfer (engl. single electron transfer)
Smp.	Schmelzpunkt
S <sub>N</sub> 2	nukleophile Substitution
S <sub>N</sub> Ar	nukleophile aromatische Substitution
SPECT	Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie
t	Zeit
t <sub>1/2</sub>	Halbwertszeit

T	Temperatur
Tab.	Tabelle
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBAHCO <sub>3</sub>	Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat
TEAHCO <sub>3</sub>	Tetraethylammoniumhydrogencarbonat
TEA	Triethylamin
TFA	Trifluoressigsäure
Tf <sub>2</sub> N-F	<i>N</i> -Fluorbis(trifluormethylsulfonyl)imid
THF	Tetrahydrofuran
TMSCl	Trimethylsilylchlorid
U	Spannung
u. l.	unten links
u. r.	unten rechts
UV	ultraviolett
V	Volt
vgl.	vergleiche
vs.	versus
W	Watt
z.B.	zum Beispiel
μA	Mikroampere
μAh	Mikroamperestunde
μL	Mikroliter
μmol	Mikromol
σ	spezifische Leitfähigkeit

## 8 Literaturverzeichnis

- [1] a) G. von Hevesy, *Radioactive Indicators, their Application in Biochemistry, Animal Physiology, and Pathology*, 1. Auflage, Interscience Publishers, Inc., New York **1948**.  
b) URL: <http://ia600401.us.archive.org/19/items/adventuresinradi01heve/adventuresinradi01heve.pdf> [Stand: 16.12.2014].
- [2] G. Hevesy, *Biochem. J.*, **1923**, 17, 439-445.
- [3] G. Hevesy, *Adventures in Radiation Research. The collected papers of Georg Hevesy*, 1. Auflage, Pergamon Press, Oxford **1962**, S. 11f.
- [4] M. Brucer, *A Chronology of Nuclear Medicine*, Mallinckordt Medical Heritage Publications, Inc., St. Louis **1990**.
- [5] S. M. Qaim, H. H. Coenen, *Pharm. unserer Zeit*, **2005**, 6, 460-466.
- [6] G. Stöcklin, Spezielle Syntheseverfahren mit kurzlebigen Radionukliden und Qualitätskontrolle, in: *Nuklearmedizin Teil 1B, Emissions-Computertomographie mit kurzlebigen Zyklotron-produzierten Radiopharmaka*, J. Fitschen, F. Helus, K. Jordan, D. Junker, G.-J. Meyer, O. Schober, G. Stöcklin, H. Hundeshagen (Eds.), Springer Verlag, Heidelberg **1988**, S. 31-117.
- [7] S. M. Qaim, *Radiochim. Acta*, **2013**, 101, 473-480.
- [8] B. Langström, O. Itsenko, O. Rahman, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **2007**, 50, 794-810.
- [9] H. H. Coenen, *Der Nuklearmediziner*, **1994**, 3, 203-214.
- [10] A. Plenevaux, M. Guillaume, C. Brihaye, C. Lemaire, R. Cantineau, *Int. J. Rad. Appl. Instrum. A.*, **1990**, 41, 829-838.
- [11] H. H. Coenen, Fluorine-18 Labeling Methods, in: *PET Chemistry, The Driving Force in Molecular Imaging*, P. A. Schubiger, L. Lehmann, M. Friebe (Eds.), Springer Verlag, Berlin **2007**, S. 16-50.
- [12] A. Sanchéz-Crespo, P. Andreo, S. A. Larssen, *Eur. J. Nucl. Med.*, **2004**, 31, 44-51.
- [13] H. H. Coenen, No-carrier-added  $^{18}\text{F}$ -chemistry of radiopharmaceuticals, in: *Synthesis and applications of isotopically labeled compounds*, T. A. Baillie, J. R. Jones, Elsevier, Amsterdam **1988**, S. 443-448.
- [14] B. M. Gallagher, A. Ansari, H. Atkins, V. Casella, D. R. Christman, J. S. Fowler, T. Idot, R. R. MacGregor, P. Som, C. N. Wan, A. P. Wolf, D. E. Kuhl, M. Reivich (Eds.), *J. Nucl. Med.*, **1977**, 18, 990-996.
- [15] K. Hamacher, H. H. Coenen, G. Stöcklin, *J. Nucl. Med.*, **1986**, 27, 235-238.
- [16] G. Blessing, H. H. Coenen, K. Franken, S. M. Qaim, *Appl. Radiat. Isot.*, **1986**, 37, 1135-1139.

- [17] E. Hess, G. Blessing, H. H. Coenen, S. M. Qaim, *Appl. Radiat. Isot.*, **2000**, 52, 1431-1440.
- [18] T. Liang, C. N. Neumann, T. Ritter, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52, 8214-8264.
- [19] K. H. Lieser, *Einführung in die Kernchemie*, 3. Neubearbeitete Auflage, Verlag Chemie, Weinheim **1991**, S. 493f.
- [20] J. Ermert, *BioMed Research International*, **2014**, 1-15.
- [21] B. Långström, T. Kihlberg, M. Bergström, G. Antoni, M. Björkman, B. H. Forngren, T. Forngren, P. Hartvig, K. Markides, U. Yngve, M. Ogren, *Acta Chem. Scand.*, **1999**, 53, 651-669.
- [22] D. J. Schleyer, M. A. V. Bastos, D. Alexoff, A. P. Wolf, *Appl. Radiat. Isot.*, **1990**, 41, 531-533.
- [23] H. H. Coenen, B. Klatte, A. Knöchel, M. Schüller, G. Stöcklin, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **1986**, 23, 5, 455-466.
- [24] D. O. Kiesewetter, W. C. Eckelman, R. M. Cohen, R. D. Finn, S. M. Larson, *Appl. Radiat. Isot.*, **1986**, 37, 1181-1188.
- [25] P. W. Miller, N. J. Long, R. Vilar, A. D. Gee, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, 47, 8998-9033.
- [26] S. Sadeghi, V. Liang, S. Cheung, S. Woo, C. Wu, J. Ly, Y. Deng, M. Eddings, R. M. van Dam, *Appl. Radiat. Isot.*, **2013**, 75, 85-94.
- [27] K. Hamacher, Th. Hirschfelder, H. H. Coenen, *Appl. Radiat. Isot.*, **2002**, 56, 519-523.
- [28] F. Kügler, D. Roehrens, M. Stumpf, C. Drerup, J. Ermert, K. Hamacher, H. H. Coenen, *Appl. Radiat. Isot.*, **2014**, 91, 1-7.
- [29] R. Brückner, *Reaktionsmechanismen*, 3. Auflage, Elsevier, München **2004**, S. 65.
- [30] H. H. Coenen, P. H. Elsinga, R. Iwata, M. R. Kilbourn, M. R. A. Pillai, M. G. R. Rajan, H. N. Wagner, J. J. Zaknun, *Nucl. Med. Biol.*, **2010**, 37, 7, 727-740.
- [31] C. Park, B. S. Lee, D. Y. Chi, *Org. Lett.*, **2013**, 15, 17, 4346-4349.
- [32] J. Ermert, H. H. Coenen, *Curr. Radiopharm.*, **2010**, 2, 109-126.
- [33] H. H. Coenen, J. Ermert, *Curr. Radiopharm.*, **2010**, 3, 163-173.
- [34] F. Dollé, D. Roeda, B. Kuhnast, M.-C. Lasne, Fluorine-18 Chemistry for Molecular Imaging with Positron Emission Tomography, in: *Fluorine and Health*, A. Tressaud, G. Haufe (Eds.), 1. Auflage, Elsevier, Oxford **2008**, S. 3-65.
- [35] C. S. Carman, G. F. Koser, *J. Org. Chem.*, **1983**, 48, 2534-2539.
- [36] J. Ermert, H. H. Coenen, *Curr. Radiopharm.*, **2010**, 3, 127-160.
- [37] D. Block, H. H. Coenen, G. Stöcklin, *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, **1988**, 25, 185-200.
- [38] D. Block, H. H. Coenen, G. Stöcklin, *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, **1988**, 25, 201-216.

- [39] Y. Shai, K. L. Kirk, M. A. Channing, B. B. Dunn, M. A. Lesniak, R. C. Eastman, R. D. Finn, J. Roth, K. A. Jacobson, *Biochemistry*, **1989**, 28, 4801–4806.
- [40] D. Block, H. H. Coenen, P. Laufer, G. Stöcklin, *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, **1986**, 23, 1042–1044.
- [41] D. Roeda, F. Dollé, *Curr. Radiopharm.*, **2010**, 2, 81–108.
- [42] H. J. Wester, M. Herz, W. Weber, P. Heiss, R. Senekowitsch-Schmidtke, M. Schwaiger, G. Stocklin, *J. Nucl. Med.*, **1999**, 40, 1, 205–212.
- [43] H. J. Wester, M. Schottelius, Fluorine-18 Labeling of Peptides and Proteins, in: *PET Chemistry, The Driving Force in Molecular Imaging*, P. A. Schubiger, L. Lehmann, M. Friebe (Eds.), Springer Verlag, Berlin **2007**, S. 79–112.
- [44] J. Marik, S. H. Hausner, L.A. Fix, M. K. J. Gagnon, J. L. Sutcliffe, *Bioconjugate Chem.*, **2006**, 17, 1017–1021.
- [45] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, 2004–2021.
- [46] E. Lee, A. S. Kamlet, D. C. Powers, C. N. Neumann, G. B. Boursalian, T. Furuya, D. C. Choi, J. M. Hooker, T. Ritter, *Science*, **2011**, 334, 639–642.
- [47] A. S. Kamlet, C. N. Neumann, E. Lee, S. M. Carlin, C. K. Moseley, N. Stephenson, J. M. Hooker, T. Ritter, *PLOS ONE*, **2013**, 8, 3, 1–10.
- [48] J. R. Brandt, E. Lee, G. B. Boursalian, T. Ritter, *Chemical Science*, **2014**, 5, 169–179.
- [49] E. Lee, J. M. Hooker, T. Ritter, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134, 17456–17458.
- [50] J. Wu, *Tetr. Lett.*, **2014**, 55, 4289–4294.
- [51] X. Huang, W. Liu, H. Ren, R. Neelamegam, J. M. Hooker, J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, 136, 6842–6845.
- [52] M. Tredwell, S. M. Preshlock, N. J. Taylor, S. Gruber, M. Huiban, J. Passchier, J. Mercier, C. Génicot, V. Gouverneur, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, 53, 7751–7755.
- [53] T. Ishiyama, M. Murata, N. Miyaura, *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 7508–7510.
- [54] L. Kürti, B. Czakó, *Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis*, 1. Auflage, Elsevier, Oxford **2005**, S. 296f.
- [55] J. S. Haynes, S. J. Rettig, J. R. Sams, J. Trotter, R. C. Thompson, *Inorg. Chem.*, **1988**, 27, 7, 1237–1241.
- [56] P. Y. S. Lam, C. G. Clark, S. Saubern, J. Adams, K. M. Averill, D. M. T. Chan, A. Combs, *Synlett*, **2000**, 5, 674–676.
- [57] Y. Ye, S. D. Schimler, P. S. Hanley, M. S. Sanford, *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, 135, 16292–16295.
- [58] H. Minn, S. Kauhanen, M. Seppanen, P. Nuutila, *J. Nucl. Med.*, **2009**, 50, 12, 1915–1918.
- [59] C. S. Carman, G. F. Koser, *J. Org. Chem.*, **1983**, 48, 2534–2539.
- [60] M. van der Puy, *J. Fluorine Chem.*, **1982**, 21, 385–392.

- [61] V. W. Pike, F. I. Aigbirhio, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1995**, 2215-2216.
- [62] A. Helfer, J. Castillo Meleán, J. Ermert, A. Infantino, H. H. Coenen, *Appl. Radiat. Isot.*, **2013**, *82*, 264-267.
- [63] F. R. Wüst, T. Kniess, *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, **2003**, *46*, 699-713.
- [64] J. Ermert, C. Hocke, T. Ludwig, R. Gail, H. H. Coenen, *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, **2004**, *47*, 429-441.
- [65] G. A. Olah, T. Sakakibara, G. Asensio, *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 463-468.
- [66] V. V. Grushin, I. I. Demkina, T. P. Tolstaya, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1992**, *4*, 505-511.
- [67] Patent: N. Satyamurthy, J. R. Barrio, WO 2010/117435, **2010**.
- [68] J. Cardinale, J. Ermert, S. Humpert, H. H. Coenen, *RSC Adv.*, **2014**, *4*, 17293-17299.
- [69] F. Beck, *Chemie-Ing.-Techn.*, **1970**, *42*, *4*, 153-240.
- [70] M. Noel, V. Suryanarayanan, S. Chellammal, *J. Fluorine Chem.*, **1997**, *83*, 31-40.
- [71] H. J. Schäfer, Comparison of Chemical and Electrochemical Methods in Organic Synthesis, in: *Organic Electrochemistry, Volume 8*, H. J. Schäfer (Ed.), 1. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim **2004**, S. 39f.
- [72] P. J. F. Harris, *Philosophical Magazine*, **2004**, *84*, *29*, 3159-3167.
- [73] F. Beck, *Elektroorganische Chemie*, 1. Auflage, Verlag Chemie, Weinheim **1974**, S. 102.
- [74] C. G. Zoski, *Handbook of Elektrochemistry*, 1. Auflage, Elsevier, Oxford **2007**, S. 135f.
- [75] A. Kraft, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2007**, *2*, 355-385.
- [76] J. Jörissen, Practical Aspects of Preparative Scale Elektrolysis, in: *Organic Electrochemistry, Vol. 8*, H. J. Schäfer (Ed.), 1. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim **2004**, S. 47f.
- [77] H. Matsumoto, Electrochemical Windows of Room Temperature Ionic Liquids (RTILs), in: *Electrochemical Aspects of Ionic Liquids*, Hiroyuki Ohno (Ed.), 2. Auflage, Wiley, New York **2011**, S. 43-63.
- [78] P. Hapiot, C. Lagrost, *Chem. Rev.*, **2008**, *108*, 2238-2264.
- [79] H. Tokuda, K. Hayamizu, K. Ishii, M. A. B. H. Susan, M. Watanabe, *J. Phys. Chem. B*, **2005**, *109*, *13*, 6103-6110.
- [80] P. A. Z. Suarez, C. S. Consorti, R. F. de Souza, J. Dupont, R. S. Gonçalves, *J. Braz. Chem. Soc.*, **2002**, *13*, *1*, 106-109.
- [81] H. W. Kim, J. M. Jeong, Y.-S. Lee, D. Y. Chi, K.-H. Chung, D. S. Lee, J.-K. Chung, M. C. Lee, *Appl. Radiat. Isot.*, **2004**, *61*, 1241-1246.
- [82] H. Lund, M. M. Baizer, *Organic Elektrochemistry an Introduction and a Guide*, 3. Auflage, Marcel Dekker, New York **1991**, S. 1103-1127.
- [83] I. L. Knunyants, I. N. Rozhkov, A. V. Bukhtiarov, M. M. Gol'din, R. V. Kudryavtsev, *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.*, **1970**, 1207-1208. // Chem. Abstr. **1970**, *73*, 65752y.



- [84] I. N. Rozhkov, A. V. Bukhtiarov, I. L. Knunyants, *Izv. Akad. Nauk USSR, Ser. Khim.*, **1972**, 1130-1133. // *Chem. Abstr.*, **1972**, 77, 82878u.
- [85] L. Eberson, Z. Blum, B. Hegl  e, K. Nyberg, *Tetrahedron*, **1978**, 34, 6, 731-739.
- [86] G. Reischl, G. J. Kienzle, H.-J. Machulla, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **2002**, 254, 2, 409-411.
- [87] G. J. Kienzle, G. Reischl, H.-J. Machulla, *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, **2005**, 48, 259-273.
- [88] J. Bergmann, O. Solin, *Nucl. Med. & Bio.*, **1997**, 24, 677-683.
- [89] J. Bergman, P. Johnstr  m, M. Haaparanta, O. Solin, T. Duelfer, S. Stone-Elander, *Appl. Radiat. Isot.*, **1995**, 46, 10, 1027-1034.
- [90] a) R. E. Banks, M. K. Besheesh, S. N. Mohialdin-Khaffaf, I. Sharif, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1996**, 2069-2076; b) R. E. Banks, S. N. Mohialdin-Khaffaf, G. S. Lal, I. Sharif, R. G. Syvret, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1992**, 595; c) J. J. Hart, R. G. Syvret, *J. Fluorine Chem.*, **1999**, 100, 157-161 und R. E. Banks, US 5.086.178, **1992**, S. 9 aus H. Teare, E. G. Robins, A. Kirjavainen, S. Forsback, G. Sandford, O. Solin, S. K. Luthra, V. Gouverneur, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49, 6821-6824.
- [91] H.H. Coenen, S. M. Moerlein, *J. Fluorine Chem.*, **1986**, 36, 63-75.
- [92] M. Navamari, A. Bishop, N. Satyamurthy, G. Bida, J. R. Barrio, *Appl. Radiat. Isot.*, **1992**, 43, 989-993.
- [93] E. F. J. de Vries, G. Luurtsema, M. Br  ssermann, P. H. Elsinga, W. Vaalburg, *Appl. Radiat. Isot.*, **1999**, 51, 389.
- [94] P. T. Nyffeler, S. G. Dur  n, M. D. Burkart, S. P. Vincent, C.-H. Wong, *Angew. Chem.*, **2005**, 117, 2, 196-217.
- [95] R. Hoppe, W. D  hne, H. Mattauch, K. M. R  dder, *Angew. Chem.*, **1962**, 74, 22, 903.
- [96] M. Schlosser, G. Heinz, *Chem. Ber.*, **1969**, 102, 6, 1944-1953.
- [97] O. Lerman, S. Rozen, *J. Org. Chem.*, **1983**, 48, 5, 724-727.
- [98] H. I. Bloemink, S. A. Cooke, J. H. Holloway, A. C. Legon, *Angew. Chem.*, **1997**, 109, 2, 1399-1401.
- [99] A. F. Holleman, N. Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, 102. Auflage, W. de Gruyter, Berlin **2007**, S. 432.
- [100] S. T. Purrington, C. A. Haney, R. D. Voyksner, *J. Fluorine Chem.*, **1993**, 65, 1-2, 97-100.
- [101] D. Mootz, K. Bartmann, *Z. Naturforsch.*, **1991**, 46b, 1659-1663.
- [102] D. Mootz, K. Bartmann, *Angew. Chem.*, **1988**, 100, 424-426.
- [103] K. O. Christie, *J. Fluorine Chem.*, **1984**, 25, 269-273.
- [104] E. Differding, G. R  egg, *Tetr. Lett.*, **1991**, 32, 31, 3815-3818.
- [105] D. D. DesMarteau, Z.-Q. Xu, M. Witz, *J. Org. Chem.*, **1992**, 57, 629-635.

- [106] T. Umemoto, S. Fukami, G. Tomizawa, K. Harasawa, K. Kawada, K. Tomita, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 8563-8575.
- [107] T. Umemoto, G. Tomizawa, *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 20, 6563-6570.
- [108] Dissertation: A. Jordanova, *Investigations of electrophilic fluorination with n.c.a. <sup>18</sup>F*, **2003**, TU Dresden unter J. Steinbach, S. 10-14.
- [109] R. E. Banks, M. K. Besheesh, S. N. Khaffaf, I. Sharif, *J. Fluorine Chem.*, **1991**, 1-3, 206. und G. S. Lal, R. G. Syvret, *J. Fluorine Chem.*, **1991**, 1-3, 208.
- [110] G. S. Lal, *J. Org. Chem.*, **1993**, *58*, 2791-2796.
- [111] R. E. Banks, M. K. Besheesh, S. N. Mohialdin-Khaffaf, I. Sharif, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1996**, 2069-2076.
- [112] G. G. Furin, A. A. Fainzilberg, *Russ. Chem. Rev.*, **1999**, *68*, 8, 653-684.
- [113] H. Teare, E. G. Robins, A. Kirjavainen, S. Forsback, G. Sandford, O. Solin, S. K. Luthra, V. Gouverneur, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 6821-6824.
- [114] a) Z. Gao, Y. H. Lim, M. Tredwell, L. Li, S. Verhoog, M. Hopkinson, W. Kaluza, T. L. Collier, J. Passchier, M. Huiban and V. Gouverneur, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, *51*, 6733-6737. b) I. S. R. Stenhagen, A. K. Kirjavainen, S. F. Forsback, C. G. Jorgensen, E. G. Robins, S. K. Luthra, O. Solin, V. Gouverneur, *Chem. Commun.*, **2013**, *49*, 1386-1388.
- [115] H. Meinert, D. Cech, *Z. Chem.*, **1972**, *12*, 292.
- [116] T. Umemoto, K. Kawada, K. Tomita, *Tetr. Lett.*, **1986**, *27*, 37, 4465-4468.
- [117] F. Oberdorfer, E. Hofmann, W. Maier-Borst, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **1988**, *25*, 999-1005.
- [118] E. Differding, H. Ofner, *Synlett*, **1991**, *3*, 187-189.
- [119] D. D. Steiner, N. Mase, C. F. Barbas, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, *44*, 3706-3710.
- [120] G. G. Furin, A. A. Fainzilberg, *Russ. Chem. Rev.*, **1999**, *68*, 8, 653-684.
- [121] H. Teare, E. G. Robins, E. Årstad, S. K. Luthra V. Gouverneur, *Chem. Commun.*, **2007**, 2330-2332.
- [122] S. Singh, D. D. DesMarteau, S. S. Zuberi, M. Witz, H. N. Huang, *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, *109*, 7194-7196.
- [123] Dissertation: W. Ying, *The Application of N-Fluorobis[(trifluoromethyl)sulfonyl]-imide*, **1998**, Clemson University unter D. D. DesMarteau.
- [124] J. Forpoulos, D. D. DesMarteau, *Inorg. Chem.*, **1984**, *23*, 3720-3723
- [125] D. D. DesMarteau, M. Witz, *J. Fluorine Chem.*, **1991**, *52*, 7-12.
- [126] S. Singh, D. D. DesMarteau, S. S. Zuberi, M. Witz, H.-N. Huang, *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, *109*, 7194-7196.
- [127] E. S. Stoyanov, K.-C. Kim, C. A. Reed, *J. Phys. Chem. A*, **2004**, *108*, 9310-9315.
- [128] G. Resinat, D. D. DesMarteau, *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 4281-4284.

- [129] F. Oberdorfer, G. Dietzel, *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, **2003**, 46, S216.
- [130] J. Lehmann, *Pharm. Unserer Zeit*, **1998**, 27, 52-57. und G. R. J. Thatcher, H. Weldom, *Chem. Soc. Rev.*, **1998**, 27, 331-337.
- [131] T. Karow, R. Lang-Roth, *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Vorlesungsorientierte Darstellung und klinischer Leitfaden für Studium und Praxis*, 22. Auflage, Verleger T. Karow, Köln **2013**, S. 104 ff.
- [132] F. Murad, *Angew. Chem.*, **1999**, 111, 1976-1989. // R. F. Furchgott, *Angew. Chem.*, **1999**, 111, 1990-2000. // L. J. Ignarro, *Angew. Chem.*, **1999**, 111, 2000-2013.
- [133] A. Hermann, G. F. Sitdikova, T. M. Weiger, *Biol. Unserer Zeit*, **2010**, 40, 185-193.
- [134] L. J. Ignarro, J. M. Fukuto, J. M. Griscavage, N. E. Rogers, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1993**, 90, 8103-8107.
- [135] P. Vallance, J. Leiper, *Nature Rev. Disc.*, **2002**, 1, 939-950.
- [136] S. Pfeiffer, B. Mayer, B. Hemmens, *Angew. Chem.*, **1999**, 111, 1824-1844.
- [137] J. L. Boucher, A. Gent, S. Vadon, M. Delaforge, Y. Henry, D. Mansuy, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1992**, 187, 880-886.
- [138] S. Maddaford, S. C. Annedi, J. Ramnauth, S. Rakhit, *Annu. Rep. Med. Chem.*, **2009**, 44, 27-50.
- [139] D. S. Bredt, P. M. Hwang, C. E. Glatt, C. Lowenstein, R. R. Reed, S. H. Snyder, *Nature*, **1991**, 351, 714-718.
- [140] S. Moncada, A. Higgs, *N. Engl. J. Med.*, **1993**, 329, 2002-2012.
- [141] P. Vallance, J. Leiper, *Nature Rev. Drug Disc.*, **2002**, 1, 939-950.
- [142] U. Förstermann, *Biol. Unserer Zeit*, **1994**, 24, 2, 62-69.
- [143] J. Garthwaithe, *Trends Neurosci.*, **1991**, 14, 60-67.
- [144] S. Jacoby, R. E. Sims, N. A. Hartell, *J. Physiol.*, **2001**, 535, 825-39.
- [145] J. R. Steinert, T. Chernova, I. D. Forsythe, *The Neuroscientist*, **2010**, 16, 4, 435-452.
- [146] M. R. Dzoljic, R. de Vries, R. van Leeuwen, *Brain Res.*, **1996**, 718, 145-150.
- [147] D. E. Baranano, S. H. Snyder, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2001**, 98, 10996-11002.
- [148] Y. Xia, V. L. Dawson, T. M. Dawson, S. H. Snyder, J. L. Zweier, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1996**, 93, 6770-6774.
- [149] J. S. Beckman, W. H. Koppenol, *Am. J. Physiol.*, **1996**, 271, 1424-1437.
- [150] J. Leiper, J. Murray-Rust, N. McDonald, P. Vallance, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2002**, 99, 13527-13532.
- [151] D.-H. Cho, T. Nakamura, J. Fang, P. Cieplak, A. Godzik, Z. Gu, S. A. Lipton, *Science*, **2009**, 324, 102-105.
- [152] C. H. Cho, *J. Physiol. Paris*, **2001**, 95, 253-256.
- [153] C. Nathan, *FASEB Journal*, **1992**, 6, 12, 3051-3064.
- [154] W. Xu, L. Z. Liu, M. Loizidou, M. Ahmed, I. G. Charles, *Cell Res.*, **2002**, 12, 311-320.

- [155] M. Stefanovic-Racic, J. Stadler, C. H. Evans, *Arthritis Rheum.*, **1993**, 36, 1036-1044.
- [156] K. D. Kröcke, V. Kolb-Bachofen, B. Berschick, V. Burkart, H. Kolb, *Bioch. Biophys. Res. Comm.*, **1991**, 175, 752-758.
- [157] M. A. Titheradge, *Biochim. Biophys. Acta*, **1999**, 1411, 437-455.
- [158] D. J. Moore, A. B. West, V. L. Dawson, T. M. Dawson, *Annu. Rev. Neurosci.* **2005**, 28, 57-87.
- [159] Y. Okuda, Y. Nakatsuji, H. Fujimura, H. Esumi, T. Ogura, *J. Neuroimmunol.*, **1995**, 62, 103-112.
- [160] M. Lechner, P. Lirk, J. Rieder, *Semin. Cancer Biol.*, **2005**, 15, 277-289.
- [161] A. J. Hobbs, A. Higgs, S. Moncada, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **1999**, 39, 191-220.
- [162] A. J. Cayatte, J. J. Palacino, K. Horten, R. A. Cohen, *Arterioscler. Thromb.*, **1994**, 14, 753-759.
- [163] O. W. Griffith, R. G. Kilbourn, *Methods Enzymol.*, **1996**, 268, 375-392.
- [164] J. M. Hevel, M. A. Marletta, *Biochemistry*, **1992**, 31, 7160-7165.
- [165] C. Nathan, Q.W. Xie, *J. Biol. Chem.*, **1994**, 269, 13725-13728.
- [166] L. H. Lassen, M. Ashina, I. Christiansen, V. Ulrich, R. Grover, J. Donaldson, J. Oleson, *Cephalalgia*, **1998**, 18, 27-32.
- [167] N. M. Olken, Y. Osawa, M. A. Merletta, *Biochemistry*, **1994**, 33, 14784-14791.
- [168] E. P. Erdal, E. A. Litzinger, J. Seo, Y. Zhu, H. Ji, R. B. Silverman, *Curr. Top. Med. Chem.*, **2005**, 5, 603-624.
- [169] W. M. Moore, R. K. Webber, G. M. Jerome, F. S. Tjoeng, T. P. Misko, M. G. Currie, *J. Med. Chem.*, **1994**, 37, 3886-3888.
- [170] S. Stenger, H. Thuring, M. Rollinghoff, P. Manning, C. Bogdan, *Eur. J. Pharmacol.*, **1995**, 294, 703-712.
- [171] R. J. Connor, P. T. Manning, S. L. Settle, W. M. Moore, G. M. Jerome, R. K. Webber, F. S. Tjoeng, M. G. Currie, *Eur. J. Pharmacol.*, **1995**, 273, 15-24.
- [172] E. A. Hallinan, S. W. Kramer, S. C. Houdek, W. M. Moore, G. M. Jerome, D. P. Spangler, M. A. Stevens, H. S. Shieh, P. T. Manning, B. S. Pitzele, *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, 1, 3527-3534.
- [173] E. A. Hallinan, T. J. Hagen, A. Bergmanis, W. Moore, G. M. Jerome, D. P. Spangler, A. M. Stevens, S. Shieh, P. T. Manning, B. S. Pitzele, *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 900-906.
- [174] Patent: E. A. Hallinan, B. S. Pitzele, D. P. Spangler, M. V. Toth, R. K. Webber, A. A. Bergmanis, T. J. Hagen, S. Tsymbalov, *US 6.344.483 B1*, **2002**.
- [175] T. Yoshida, V. Limmroth, K. Irikura, M. A. Moskowitz, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **1994**, 14, 924-929.

- [176] B. Mayer, P. Klatt, E. R. Werner, K. Schmidt, *Neuropharmacology*, **1994**, 33, 1253-1259.
- [177] R. B. Silverman, *Acc. Chem. Res.*, **2009**, 42, 3, 439-451.
- [178] H. Ji, B. Z. Stanton, J. Igarashi, H. Li, P. Martásek, L. J. Roman, T. L. Poulos, R. B. Silverman, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130, 3900-3914.
- [179] H. Ji, H. Li, P. Martásek, L. J. Roman, T. L. Poulos, R. B. Silverman, *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 779-797.
- [180] S. L. Delker, H. Ji, H. Li, J. Jamal, J. Fang, F. Xue, R. B. Silverman, T. L. Poulos, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, 132, 15, 5437-5442.
- [181] H. Juang, R. B. Silverman, *Curr. Top. Med. Chem.*, **2013**, 13, 803-812.
- [182] H. Ji, S. L. Delker, H. Li, P. Mertásek, L. J. Roman, T. L. Poulos, R. B. Silverman, *J. Med. Chem.*, **2010**, 53, 7804-7824.
- [183] R. N. Waterhouse, *Mol. Imaging Biol.*, **2003**, 5, 6, 376-389.
- [184] N. J. Abbott, A. A. K. Patabendige, D. E. M. Dolman, S. R. Yusof, D. J. Begley, *Neurobiol. Dis.*, **2010**, 37, 13-25.
- [185] J. M. Scherman, *Vasc. Pharmacol.*, **2002**, 38, 349-354.
- [186] G. R. Lawton, H. R. Ranaivo, L. K. Chico, H. Ji, F. Xue, R. Martásek, L. J. Roman, D. M. Watterson, R. B. Silverman, *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, 17, 2371-2380.
- [187] F. Xue, J. Fang, W. W. Lewis, P. Martásek, L. J. Roman, R. B. Silverman, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, 20, 554-557.
- [188] Patent: R. B. Silverman, Q. Jing, *US 2014/0256016 A1*, **2014**, Verbdg. 4 (QJ-I-162).
- [189] F. Xue, J. Fang, S. L. Delker, H. Li, P. Martásek, L. J. Roman, T. L. Poulos, R. B. Silverman, *J. Med. Chem.*, **2011**, 54, 2039-2048.
- [190] Q. Jing, H. Li, J. Fang, L. J. Roman, P. Martásek, T. L. Poulos, R. B. Silverman, *Bioorg. Med. Chem.*, **2013**, 21, 5323-5331.
- [191] J. Zhang, M. Xu, C. S. Dence, E. L. C. Sherman, T. J. McCarthy, M. J. Welch, *J. Nucl. Med.*, **1997**, 38, 8, 1273-1278.
- [192] P. Mukherjee, M. A. Cinelli, S. Kang, R. B. Silverman, *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, 43, 6814-6838.
- [193] Hesslinger, A. Strub, R. Boer, W.-R. Ulrich, M. D. Lehner, C. Braun, *Biochem. Soc. Trans.*, **2009**, 37, 886-891.
- [194] E. F. J. de Vries, J. Vroegh, G. Dijkstra, H. Moshage, P. H. Elsinga, P. L. M. Jansen, W. Vaalburg, *Nucl. Med. Biol.*, **2004**, 31, 605-612.
- [195] J. Zang, A. H. Cross, T. J. McCarthy, M. J. Welch, *Nitric Oxide*, **1997**, 1, 263-267.
- [196] D. Zhou, H. Lee, J. M. Rothfuss, D. L. Chen, D. E. Ponde, M. J. Welch, R. H. Mach, *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 2443-2453.
- [197] H. Huang, R. B. Silverman, *Curr. Top. Med. Chem.*, **2013**, 13, 803-812.

- [198] P. Herrero, R. Laforest, K. Shoghi, D. Zhou, G. Ewald, J. Pfeifer, E. Duncavage, K. Krupp, R. Mach, R. Gropler, *J. Nucl. Med.*, **2012**, 53, 6, 994-1001.
- [199] Diplomarbeit: C. Drerup, *Elektrosynthese elektrophiler  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzien*, Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn, **2011**, unter H. H. Coenen.
- [200] MoBiChip Abschlussbericht: K. Hamacher, D. Röhrens, M. Stumpf, F. Kügler, C. Drerup, J. Ermert, H. H. Coenen, *Elektrochemische Vorrichtung zur Separation des Radioisotopes [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid aus der wässrigen Phase und Transfer des Nuklids in ein mikrofluidisches System zur trägerarmen  $^{18}\text{F}$ -Fluorierung*, <http://edok01.tib.uni-hannover.de/edoks/e01fb13/755772113.pdf>, Jülich, **2012**.
- [201] L. Conte, G. P. Gambaretto, *J. Fluorine Chem.*, **2004**, 125, 139-144.
- [202] T. Abe, E. Hayashi, H. Baba, *J. Fluorine Chem.*, **2000**, 106, 35-42.
- [203] L. Conte, C. Fraccaro, M. Napoli, *J. Fluorine Chem.*, **1986**, 34, 183-189.
- [204] L. Conte, M. Napoli, G. P. Gambaretto, *J. Fluorine Chem.*, **1985**, 30, 89-95.
- [205] M. Haruta, N. Watanabe, *J. Fluorine Chem.*, **1976**, 7, 159-177.
- [206] M. Hasegawa, H. Ishii, T. Fuchigami, *Green Chemistry*, **2003**, 5, 512-515.
- [207] E. Riedel, *Anorganische Chemie*, 6. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin **2004**, S. 119.
- [208] R. P. Singh, J. M. Shreeve, *Chem. Commun.*, **2001**, 47, 4, 1196-1197.
- [209] M. Fleischmann, P. J. Hendra, A. J. McQuillan, *Chem. Phys. Lett.*, **1974**, 26, 2, 163-166.
- [210] A. S. Kiselyov, *Chem. Soc. Rev.*, **2005**, 34, 1031-1037.
- [211] R. Hagiwara, Y. Ito, *J. Fluorine Chem.*, **2000**, 105, 221-227.
- [212] V. R. Koch, L. A. Dominey, C. Nanjundiah, *J. Electrochem. Soc.*, **1996**, 143, 3, 798-803.
- [213] H. Matsumoto, Electrochemical Windows of Room Temperature Ionic Liquids (RTILs), in: *Electrochemical Aspects of Ionic Liquids*, H. Ohno (Ed.), 2. Auflage, Wiley, New York **2011**, S. 43-63.
- [214] K. Hamacher, H. H. Coenen, *Appl. Radiat. Isot.*, **2006**, 64, 989-994.
- [215] Patent: K. Hamacher, G. Blessing, *WO 95/18668*, **1995**.
- [216] M. Noel, R. Santhanam, *J. Power Sources*, **1998**, 72, 53-65.
- [217] A. Nishida, A. Kobayashi, H. Omori, M. Inaba, M. Uno, Y. Nishiki, T. Furata, A. Tasaka, *ECS Transactions*, **2008**, 16, 469-477.
- [218] I. V. Tetko, J. Gasteiger, R. Todeschini, A. Mauri, D. Livingstone, P. Ertl, V. A. Palyulin, E. V. Radchenko, N. S. Zefirov, A. S. Makarenko, V. Y. Tanchuk, V. V. Prokopenko, *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **2005**, 19, 453-63. // VCCLAB, Virtual Computational Chemistry Laboratory, <http://www.vcclab.org>, 19.12.2014.
- [219] Patent: D. D. DesMarteau, *EP0211578 A2*, **1986**, Example 1, S.14.

- [220] J. A. H. Inkster, K. Liu, S. Ait-Mohand, P. Schaffer, B. Guérin, T. J. Ruth, T. Storr, *Chem. Eur. J.*, **2012**, 18, 35, 11079-11087.
- [221] P. G. M. Woods, T. W. Greene, *Greene's protective Groups in organic chemistry*, 4. Auflage, John Wiley & Sons Inc., Hoboken (New Jersey, USA) **2007**.
- [222] G. M. Dykes, L. J. Brierley, D. K. Smith, P. T. McGrail, G. J. Seeley, *Chem. Eur. J.*, **2001**, 7, 21, 4730-4739.
- [223] A. Armstrong, I. Brackenridge, R. F. W. Jackson, J. M. Kirk, *Tetr. Lett.*, **1988**, 29, 20, 2483-2486.
- [224] G. S. Lal, G. P. Pez, R. J. Pesaresi, F. M. Prozonic, H. Cheng, *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 7048-7054.
- [225] V. Tolman, J. Beneš, *J. Fluorine Chem.*, **1976**, 7, 397-407.
- [226] B. V. Plapp, J. C. Kim, *Anal. Biochem.*, **1974**, 62, 291-294.
- [227] D. W. Kim, D. S. Ahn, Y. H. Oh, S. Lee, H. S. Kil, S. J. Oh, S. J. Lee, J. S. Kim, J. S. Ryu, D. H. Moon, D. Y. Chi., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 16394–16397.
- [228] D. W. Kim, H. J. Jeong, S. T. Lim, M. H. Sohn, J. A. Katzenellenbogen, D. Y. Chi, *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 957–962.
- [229] Masterarbeit: M. R. Brandt, *Untersuchungen zur Synthese des potentiellen iNOS-Inhibitors 6-(2-[<sup>18</sup>F]Fluorpropyl)-4-methylpyridin-2-amin*, Universität zu Köln, **2013**, unter H. H. Coenen.
- [230] S. P. Bruckelmann, S. E. Leach, G. D. Meakins, M. D. Tirl, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1984**, 1, 2801-2807.
- [231] Patent: R. B. Silverman, F. Xue, *US 2010/0292484 A1*, **2010**.
- [232] L. Wyffels, G. G. Muccioli, S. de Bruyne, L. Moerman, J. Sambre, D. M. Lambert, F. de Vos, *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 4613-4622.
- [233] J. Einhorn, C. Einhorn, J.-L. Luche, *Synlett*, **1991**, 1991, 37-38.
- [234] J. Cardinale, J. Ermert, *Tetr. Lett.*, **2013**, 54, 2067-2069.
- [235] Patent: N. Satyamurthy, J. R. Barrio, *WO 2010/117435 A2*, **2010**.
- [236] A. Walia, S. Kang, R. B. Silverman, *J. Org. Chem.*, **2013**, 78, 10931-10937.
- [237] Patent: G. C. Hirst, P. Rafferty, K. Ritter, D. Calderwood, N. Wishart, L. D. Arnold, M. M. Friedman, *US 2002.15.6081 (A1)*, **2001**, [0592].
- [238] T. Ishiyama, M. Murata, N. Miyaura, *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 7508-7510.
- [239] J. S. Haynes, S. J. Rettig, J. R. Sams, J. Trotter, R. C. Thompson, *Inorg. Chem.*, **1988**, 27, 1237-1241.
- [240] J. P. Siebrasse, *Differenzielle Elektrochemische Massenspektrometrie (DEMS)*, Versuch im Rahmen des Fortgeschrittenen-Praktikum in Physikalischer Chemie der Universität Bonn, Stand 19.10.2009.

- [241] W. Vielstich, C. H. Hamann, *Elektrochemie*, 4. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim **2005**, S. 276.
- [242] B. Speiser (Ed.), Electroanalytical Methods in *Instrumentation and Electroanalytical Chemistry*, P. R. Unwin, 1. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim **2003**, S. 110.
- [243] B. Speiser (Ed.), Electroanalytical Methods in *Instrumentation and Electroanalytical Chemistry*, P. R. Unwin, 1. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim **2003**, S. 106.
- [244] Dissertation: T. L. Ross, *Direct no-carrier-added  $^{18}\text{F}$ -labelling of arenes via nucleophilic substitution on aryl(2-thienyl)iodonium salts*, Berichte des Forschungszentrums Jülich, (Juel-4200), **2006**, S. 82.
- [245] K. Orito, A. Horibata, T. Nakamura, H. Ushito, H. Nagasaki, M. Yuguchi, S. Yamashita, M. Tokuda, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 14342-14343.
- [246] S. M. Qaim, G. Stöcklin, *Radiochim. Acta*, **1983**, 34, 25-40.
- [247] J. Cardinale, J. Ermert, K. Kügler, A. Helfer, M. R. Brandt, H. H. Coenen, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **2012**, 55, 450-453.



## 9 Danksagung

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Heinz H. Coenen, für die spannende und herausfordernde Themenstellung und für die ausgezeichneten Arbeitsbedingungen im Institut. Er nahm stets besondere Rücksicht auf meine Interessen, förderte diese und unterstützte mich dabei, meine Ergebnisse auf diversen Konferenzen zu präsentieren.

PD Dr. Johannes Ermert möchte ich ganz besonders für die persönliche Betreuung danken. Er hatte stets ein offenes Ohr für meine fachlichen Fragen und Probleme und stand mir mit zahlreichen Hinweisen und Vorschlägen bei der Erstellung der Arbeit zur Seite.

Dr. Hamacher danke ich für die kompetenten und unterstützenden Diskussionen, im Zusammenhang mit den elektrophilen  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzien und der Radiosynthese des 5- $^{18}\text{F}$ Fluorlysins.

Bei meinen Kommilitonen Dr. Fabian Kügler und Dr. Andreas Helfer bedanke ich mich dafür, dass sie mir jederzeit bei Fragen und Problemen theoretischer und praktischer Natur mit nützlichen Ratschlägen zur Seite standen. Mein besonderer Dank geht auch an Dr. Jens Cardinale für den kompetenten Erfahrungsaustausch und hilfreiche Anregungen im Umgang mit Iodoniumverbindungen.

Mein besonderer Dank geht an M.Sc. Marie Brandt, Marc Lehmacher, nunmehr Diplom-Chemiker und Hanna Beckensträter für das tatkräftige Mitwirken an einem großen Teil dieser Arbeit.

Dr. Sabine Willbold und Dr. Björn Thiele sowie insbesondere Dr. Marcus Holschbach und Dr. Dirk Bier danke ich für nützliche Tipps und die Messung ungezählter NMR- und Massenspektren, die im Rahmen dieser Arbeit anfielen.

Karl-Heinz Riedel, Sebastian Becker und Ingo Montag danke ich für das Lösen außergewöhnlicher technischer Probleme des Laboralltags. Den Operateuren Manfred Holzgreve und Klaus Adrian danke ich außerdem für die zuverlässige Produktion und Bereitstellung des  $^{18}\text{F}$ Fluorids.

Mein genereller Dank gilt den technischen Angestellten und wissenschaftlichen Mitarbeitern sowie meinen Kommilitonen am Institut für Nuklearchemie des Forschungszentrums Jülich, welche ich in den vergangenen Jahren sehr zu schätzen gelernt habe. Vielen Dank für die schöne Zeit, die Hilfsbereitschaft und das angenehme Arbeitsklima.

*Abschließend möchte ich einen ganz besonderen Dank an meine Familie und meine Freunde richten!*

Ich versichere, dass ich die von mir vorgelegte Dissertation selbstständig angefertigt, die benutzten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben und die Stellen der Arbeit - einschließlich Tabellen, Karten und Abbildungen, die anderen Werken im Wortlaut oder Sinn nach entnommen sind, in jedem Einzelfall als Entlehnung kenntlich gemacht; dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat; dass sie - abgesehen von unten angegebenen Teilpublikationen - noch nicht veröffentlicht worden ist, sowie, dass ich eine solche Veröffentlichung vor Abschluss des Promotionsverfahrens nicht vornehmen werde. Die Bestimmungen dieser Promotionsordnung sind mir bekannt. Die von mir vorgelegte Dissertation ist von Prof. Dr. H. H. Coenen betreut worden.

---

Jülich, Februar 2015

- **Chip-basierte Synthese radioaktiver Arzneimittel und Diagnostika für die molekulare Bildgebung, Teilvorhaben: Separations- und Transfer-technologien**

K. Hamacher, D. Röhrsens, M. Stumpf, F. Kügler, C. Drerup, J. Ermert, H. H. Coenen, Abschlussbericht zur MoBiTech: Technologie-Initiative Molekulare Bildgebung, **2012**.

- **Elektrochemical generation of electrophilic n.c.a.  $^{18}\text{F}$ -fluorinating reagents impossible?**

C. Drerup, F. Kügler, J. Ermert, K. Hamacher, H. H. Coenen, *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, Suppl. 1, **2013**, 56, S168.

- **Optimizing the transfer of [ $^{18}\text{F}$ ]fluoride from aqueous to organic solvents by electrodeposition using carbon electrodes**

F. Kügler, D. Röhrsens, M. Stumpf, C. Drerup, J. Ermert, K. Hamacher, H. H. Coenen, *Applied Radiation and Isotopes*, **2014**, 91, 1-7.

## Lebenslauf

### ▪ Persönliche Daten

Name: Christian Drerup

Geburtstag: 13. Juli 1984

Geburtsort: Greven

Staatsangehörigkeit: Deutsch

### ▪ Studium und Ausbildung

04/2012 – 01/2015 **Universität zu Köln / Forschungszentrum Jülich**

Promotionsstudium Chemie

04/2005 – 11/2011 **Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn**

Chemie, Diplom

Wahlpflichtfach: Nuklearchemie

Diplomarbeit: „Elektrosynthese von elektrophilen  $^{18}\text{F}$ -Fluorierungsreagenzien“ unter Anleitung von Professor Dr. H. H. Coenen am Institut für Nuklearchemie des Forschungszentrums Jülich

09/1995 – 06/2004 **Gutenberg-Gymnasium, Bergheim**

Abschluss: Abitur

08/1991 – 06/1995 **Astrid-Lindgren-Schule, Bergheim**

